FACULTÉ DE PHARMACIE
Thèse D.U. N° 114 Paris 1946

LE MICRODOSAGE DU CALCIUM
LA CALCÉMIE
DANS LES AFFECTIONS OSSEUSES

THÈSE

pour l'obtention du Diplôme de Docteur de l'Université

présentée et soutenue le 2 DEC 1946

par le

DOCTEUR JACQUES RENAUDIN
Pharmacien Assistant - Ex-Interne des Hôpitaux de Paris
Ex-Pharmacien de l'Hôpital Maritime de Berck-Plage
Docteur en Médecine

JURY : P^r^ FLEURY ..... Président
P^r^ JANOT ..... Professeur
P^r^ GUILLOT ..... Professeur

Imprimerie S. SORDES - Bayonne
— 1946 —

FACULTÉ DE PHARMACIE

Thèse D.U. N° 114 Paris 1946

LE MICRODOSAGE DU CALCIUM
LA CALCÉMIE
DANS LES AFFECTIONS OSSEUSES

THÈSE

pour l'obtention du Diplôme de Docteur de l'Université

présentée et soutenue le

par le

DOCTEUR JACQUES RENAUDIN

Pharmacien Assistant - Ex-Interne des Hôpitaux de Paris
Ex-Pharmacien de l'Hôpital Maritime de Berck-Plage
Docteur en Médecine

JURY : P[r] FLEURY ..... Président
P[r] JANOT ..... Professeur
P[r] GUILLOT ..... Professeur

Imprimerie S. SORDES - Bayonne
— 1946 —

PERSONNEL DE LA FACULTÉ DE PHARMACIE

Administration

MM. FABRE, Doyen, ✻, ✪ I.
SOMMELET, Assesseur, ✻, ✪ I.
H.-J. LIONNET, Secrétaire, ✪ I.

Professeurs

MM. N..... Chimie minérale
SOMMELET, ✻, ✪ I. .... Chimie organique.
FABRE, ✻, ✪ I. ..... Toxicologie.
DELABY, ✻, ✪ I. ..... Pharmacie chimique.
PICON, ✻, ✪ I. ..... Physique.
MASCRÉ, ✻, ✪ I. ..... Histoire naturelle des Médicaments simples d'origine végétale.
N..... Botanique générale.
FLEURY, ✪ I,..... Chimie biologique.
N..... Microbiologie.
JANOT, ✪ A. ..... Pharmacie galénique.
CHARONNAT, ✪ I. ..... Chimie analytique.
VALETTE, ✪ A..... Zoologie appliquée.
BEDEL, ✻, ✪ I..... Législation, déontologie et histoire de la Pharmacie.
GUILLOT..... Professeur sans chaire.

R. UNIV. BIBLIOTHEEK LEIDEN

Doyens honoraires : MM. RADAIS, O. ✻, ✪ I. — GUERIN, O. ✻, ✪ I
Professeurs honoraires : MM. DELEPINE, O. ✻, ✪ I. et LEBEAU, O. ✻, ✪ I

Membres de l'Institut

PERROT, O, ✻, ✪ I., COUTIÈRE, O. ✻, ✪ I.
BOUGAULT, O. ✻, ✪ I., LUTZ, ✻, ✪ I.
GORIS, O. ✻, ✪ I., HERISSEY, O. ✻, ✪ I.
LAUNOY, O. ✻, ✪ I.

Maîtres de conférences

MM. PARIS..... Sciences naturelles.
GAUTIER ..... Sciences physiques.
RAOUL ..... Sciences naturelles.
DAVID ..... Sciences naturelles.
DOMANGE, ✪ A..... Sciences physiques et chimiques.

Chefs des travaux pratiques

MM. HARISPE, trav. pratiques de 1re année..... Chimie générale et pharmaceutique.
MORETTE, trav. pratiques de 2e et 3e année. Chimie analytique.
CRETE ..... Micrographie.
CORRIEZ, ✪ A. ..... Physique.
Mlle LAMBIN ..... Microbiologie.
M. COURTOIS ..... Chimie biologique, Bromatologie et Pharmacie Chimique.

Bibliothécaire en chef : M. GARNIER, ✪ A.
Bibliothécaire : Mlle LAVAUD, ✪ A.

Docteur Jacques RENAUDIN
Pharmacien Assistant - Ex-Interne des Hôpitaux de Paris
Ex-Pharmacien de l'Hôpital Maritime de Berck-Plage
Docteur en médecine

LE MICRODOSAGE DU CALCIUM
LA CALCÉMIE
DANS LES AFFECTIONS OSSEUSES

A LA MEMOIRE DE MON PERE

Le Docteur Gustave RENAUDIN,
Chirurgien,
Ancien Interne des Hôpitaux de Paris.

A MA MERE.

A MON BEAU-PERE,

M. Maurice FOY, Pharmacien.

A MON FRERE,

M. Jean RENAUDIN, Pharmacien.

A MES BEAUX-PARENTS,

Le Général et Madame DETRIE.

A MA FEMME

qui nous aida en exécutant une partie des dosages effectués dans ce travail.

A MES ENFANTS.

MEIS ET AMICIS.

A LA MEMOIRE

de M. le Professeur Léon GRIMBERT.

A MON PRESIDENT DE THESE

M. le Professeur P. FLEURY

en témoignage de notre plus sincère reconnaissance pour l'aide qu'il nous apporta dans l'exécution de ce travail, et pour les conseils si précieux qu'il nous donna toujours de façon si affectueuse.

A MES MAITRES

M. MICHELON, Docteur en Pharmacie à Tours (Stage).

MM. BONDOUY, VILLEDIEU, PITARD (in memoriam), ETIENNE, PAULIN, RUTON, Professeurs à l'Ecole de Médecine et de Pharmacie de Tours.

MM. les Professeurs DELEPINE et LEROUX, Pharmaciens des Hôpitaux de Paris (Internat).

M. le Docteur CHEYMOL, Pharmacien des Hôpitaux de Paris (Internat).

en témoignage de reconnaissance pour ses conseils et la communication de ses travaux dont nous nous sommes beaucoup inspiré lors de nos recherches.

M. le Professeur A. GORIS, Directeur de la Pharmacie Centrale des Hôpitaux,

qui nous guida de façon toujours si affectueuse durant les neuf années où nous avons assuré, sous sa direction, le service de la Pharmacie et du Laboratoire de Chimie de l'Hôpital Maritime de Berck-Plage.

INTRODUCTION

Dès notre arrivée en 1929 à l'Hôpital Maritime de Berck-Plage, nous avions considéré tout l'intérêt que pouvait présenter, chez les malades osseux qui y étaient en traitement, une étude des facteurs biologiques de ces affections.

Dans diverses publications nous avons étudié les modifications de divers éléments du sérum sanguin (albumines, lipides, cholestérine, chlorures) au cours de la tuberculose osseuse et en particulier au cours des amyloses observées chez certains grands suppurants.

Nous avons également cherché quelles influences pouvaient avoir les facteurs climatiques sur l'évolution des affections osseuses.

Il nous avait semblé, cependant, que l'étude du métabolisme du calcium devait présenter un intérêt particulier dans toutes les affections osseuses soignées à Berck, affections où les troubles de la calcification sont la règle.

Nous avons, pour cela, voulu doser d'abord le calcium du sérum sanguin.

Mais nous avons pu très rapidement constater que les variations de la séro-calcémie dans la plupart des affections osseuses étaient très minimes et que les erreurs de dosages dépassaient habituellement les variations pathologiques que nous cherchions à observer.

Des dosages de comparaison faits sur un même sérum par diverses méthodes nous donnaient des résultats discordants.

Nous fûmes donc obligés d'étudier les techniques de dosages proposées pour choisir celle qui devait nous donner le maximum de garantie.

L'exposé de ces recherches fera l'objet des deux premières parties de ce travail.

Dans la première partie nous exposons les recherches que nous avons faites sur le micro-dosage du calcium en solution pure effectuées selon une technique analogue à celle utilisée par Velluz et Deschaseaux, puis par Cheymol.

Cette technique a été étudiée systématiquement à tous les temps du dosage, depuis le dosage iodométrique terminal jusqu'aux premières opérations de calcination effectuées sur les prises d'essai destinées au dosage.

Nous y étudions ensuite une technique personnelle de dosage par retour du calcium, effectuée en titrant l'excès d'oxalate introduit en quantité connue.

Dans la seconde partie nous faisons une rapide étude critique des diverses autres méthodes proposées pour le micro-dosage du calcium dans les produits biologiques.

Et nous donnons la technique à laquelle nous nous sommes définitivement arrêté.

Cette technique est décrite avec tous les détails opératoires qui ont leur importance dans un dosage aussi minutieux que l'est celui du calcium en biologie.

L'étude des variations de la séro-calcémie au cours des diverses affections osseuses fera l'objet de la dernière partie.

Malheureusement le nombre des observations que nous avons pu réunir est relativement faible et il nous a fallu surtout constater que cette seule étude de la séro-calcémie est bien insuffisante pour nous permettre de concevoir le processus du métabolisme calcique. Il nous a semblé néanmoins intéressant de rapprocher nos chiffres de ceux obtenus par divers autres auteurs et de préciser les points sur lesquels les résultats sont concordants.

PREMIERE PARTIE

RECHERCHES SUR LE MICRO-DOSAGE DU CALCIUM

PRINCIPES GENERAUX DE DOSAGE DE CALCIUM

Une étude très complète et très documentée du dosage de calcium ayant été présentée par **Ch.-O. Guillaumin** aux Journées biologiques de Strasbourg en 1931 (64), nous ne ferons qu'en rappeler brièvement les grandes lignes.

Le dosage du calcium sous sa forme la plus générale nécessite l'insolubilisation préalable de ce métal. L'oxalate, le sulfate, le tungstate et le nickelonitrite sont les sels dont les combinaisons insolubles calciques se sont le mieux prêtées à une mesure quantitative du calcium.

A. — **Nickelonitrite.** — La précipitation du calcium à l'état de nickelonitrite de potassium et de calcium a été étudiée par **Astruc** et **Mousseron** (7 et 8). Le dosage terminal étant effectué :

soit : a) après transformation des groupements NO^2 en ammoniaque par l'hydrogène naissant et titrage de l'ammoniaque formée avec le dispositif de **Parnas** et **Wagner** (en microdosage seulement).

soit : b) par dosage manganimétrique des groupements NO^2 à l'aide d'une solution titrée acide de permanganate de potassium.

soit : c) par colorimétrie en observant la coloration verte de la nitrosoantipyrine formée par action de l'antipyrine sur les groupements NO^2 du nickelonitrite (microdosage).

Nous n'avons pas personnellement essayé ces divers modes de dosage.

B. — **Tungstate.** — La précipitation du calcium sous forme de tungstate de calcium insoluble a été étudiée par **Saint-Sernin** (140) en macrodosage et appliquée en microdosage par **Mlle Bouissou** (20-122).

Ces techniques étudiées par **Boinot** (20) et par **Ch.-O. Guillaumin** (64) ne leur ont guère donné satisfaction.

Nous ne les avons pas expérimentées personnellement.

C. — **Sulfate.** — La précipitation à l'état de sulfate de calcium, étudiée d'abord par **Fresenius** (55), reprise par de nombreux auteurs, est avantageuse lorsqu'il s'agit de doser le calcium en présence de fortes quantités de magnésium. La précipation est faite par $SO^4\ H^2$ en milieu alcoolique faible pendant 12 heures, le précipité lavé et recueilli est pesé à l'état de SO^4Ca après calcination au rouge sombre.

Cette méthode nous a donné de bons résultats en macrodosage.

D. — **Oxalate.** — La précipitation du calcium à l'état d'oxalate de calcium est la méthode qui a été la plus fréquemment utilisée. Une étude détaillée en a été faite par **Ch.O. Guillaumin** (64). Les nombreuses constatations que nous avons faites lors de nos recherches personnelles sur ce sujet nous ont permis de confirmer la plupart des conclusions de cet auteur.

Le principe du dosage est le suivant :

1. — **Précipitation du calcium.**

On précipite le calcium par l'oxalate d'ammonium en milieu faiblement acide (pH compris entre 5 et 6). L'acidité peut être due à des acides variés, chlorhydrique, acétique, etc... (citrique et métaphosphorique exceptés) pourvu que le pH soit conservé dans les

limites. Dans ces conditions, la précipitation du calcium est totale et les phosphates ne sont pas précipités à l'état de phosphates calciques.

Le magnésium n'est pas précipité même après plusieurs heures si l'on a soin d'éviter une trop forte concentration en magnésium ou un trop grand excès d'oxalate.

A chaud, la précipitation se fait en cristaux plus gros, plus facilement séparables.

2. — **Lavage du Précipité.**

Si l'on doit terminer le dosage par pesée ou titrage de la chaux obtenue par calcination du précipité d'oxalate de calcium, on lavera au préalable le précipité à l'aide d'une solution chaude d'oxalate d'ammonium à 1 p. 100.

Si l'on doit terminer le dosage par titrage manganimétrique on devra faire le lavage à l'eau distillée chaude. L'erreur due à la solubilité de l'oxalate de calcium dans l'eau est peu importante en macrodosage.

3. — **Terminaison du dosage.**

On l'effectuera soit pondéralement :

a) en calcinant le précipité d'oxalate de calcium pendant 10 minutes au four électrique au rouge blanc et en pesant la chaux Ca O obtenue.

b) en calcinant modérément le précipité qui est repris par SO_4H_2 dont l'excès est évaporé et le sulfate de calcium formé est pesé après calcination au four à moufle.

Le dosage pondéral par dessiccation de l'oxalate de calcium doit être rejeté car il manque de précision.

Il en est de même du dosage basé sur la pesée du carbonate de calcium obtenu par calcination modérée de l'oxalate.

Soit volumétriquement :

a) par titrage de l'acide oxalique par manganimétrie. Le précipité d'oxalate de calcium est dissous par de l'eau acidulée ; cette solution additionnée de SO_4H_2 est portée à une température de 60 à 80° et titrée à l'aide d'une solution titrée de permanganate de potassium jusqu'à coloration rose persistant une minute.

b) On peut également oxyder à froid l'oxalate de calcium en milieu sulfurique par une quantité connue de permanganate de potassium dont on titre l'excès. Ce titrage est effectué en faisant libérer l'iode d'un iodure par le permanganate restant et en dosant l'iode libéré par une solution titrée d'hyposulfite de sodium. On fera alors un témoin qui donnera la valeur en hyposulfite titré de la quantité de permanganate introduite dans le dosage.

c) Par titrage alcalimétrique. Le précipité étant calciné au four électrique on dose volumétriquement la chaux formée soit directement, soit par retour à l'aide d'un acide titré en présence d'héliantine ou de rouge de méthyle.

Les méthodes pondérales donnent d'excellents résultats lorsque les quantités de calcium mises en réaction sont suffisantes. Les méthodes volumétriques, d'une précision moindre, donnent des résultats suffisants en macrodosage.

Nous discuterons plus loin leur valeur comparée en microdosage.

CHAPITRE PREMIER

PRECAUTIONS D'ORDRE GENERAL

1. — **Verrerie.** — La verrerie employée est mise à séjourner une nuit dans le mélange sulfo-chromique, lavée à l'eau et rincée plusieurs fois avec de l'eau distillée.

2. — **Eau distillée.** — Il est absolument indispensable que l'eau distillée employée soit exempte de toute trace de calcium. De plus l'eau, employée dans divers dosages ou pour la préparation de solutions titrées, devant être neutre, il est nécessaire de la décarbonater. Pour cela on porte l'eau distillée à l'ébullition pendant une dizaine de minutes et on la conserve en flacons bouchés avec un bouchon muni d'un tube de chaux.

3. — **Pipettes et Burettes.** — Les pipettes de précision et les burettes employées ont toutes été vérifiées et corrigées lorsque les erreurs dépassaient 0.2 p. 100.

CHAPITRE II

SOLUTIONS EMPLOYEES

Solution d'acide sulfurique N/10. — Cette solution a été titrée par pesée à l'état de sulfate de baryum et vérifiée par pesée à l'état de sulfate d'ammonium.

Solution de permanganate de potassium N/10. — Cette solution a été titrée, un mois après sa préparation, par l'oxalate neutre de sodium pur et vérifiée par iodométrie.

Solution d'hyposulfite de sodium N/10. — Cette solution est préparée avec une eau distillée décarbonatée; elle est titrée en dosant l'iode libéré par une quantité connue d'acide sulfurique N/10 agissant sur le mélange iodure-iodate et vérifiée par la solution titrée d'iodate de K.

Solution d'iodate de potassium N/10. — Cette solution est préparée par dissolution de 3,568 g. d'iodate de potassium pur et sec dans une solution d'acide sulfurique au 1/10 (en volumes) préparée à l'avance et refroidie. On amène le volume à 1.000 cm3 exactement avec cette solution.

Solution d'oxalate N/10. — Cette solution est préparée en dissolvant 6,204 g. d'oxalate neutre d'ammoniaque pur et sec dans l'eau distillée. On complète à 1.000 cm3.

Les **solutions centinormales** sont préparées en diluant très exactement au dixième les solutions décinormales avec de l'eau distillée décarbonatée.

Les solutions centinormales d'hyposulfite devront être vérifiées tous les jours.

La solution centinormale de permanganate de potassium doit être fréquemment vérifiée.

La préparation et la vérification de nos solutions titrées ont été effectuées suivant les indications données par **Fleury** dans ses fiches techniques de chimie biologique (54).

Solution d'iodure de potassium à 10 p. 100.

Cette solution doit être aussi neutre que possible.

Nous la préparons de la façon suivante :

a) Choisir un iodure de potassium neutre ou tout au moins le moins alcalin possible (l'iodure de potassium pur Poulenc donne des résultats satisfaisants).

b) Dissoudre l'iodure à l'aide d'eau distillée décarbonatée et additionner la solution obtenue d'une solution d'iode N/100, ajoutée goutte à goutte jusqu'à obtention d'une coloration jaune très pâle que l'on fera disparaître à l'aide d'une goutte d'hyposulfite N/100.

Avec le temps cette solution a une légère tendance à jaunir. On la ramène facilement à teinte blanche par addition d'hyposulfite N/100 avant l'emploi.

Empois d'amidon.

Nous préparons ce réactif selon la formule donnée par **P. Fleury** (54) mais en remplaçant l'amidon par un amidon soluble préparé suivant la technique de Leulier adoptée par Dumazert (48).

Nous opérons de la façon suivante :

1.) Préparation de l'amidon soluble (Dumazert). « Dans un ballon de 500 cm3 introduire 150 cm3 d'alcool à 95°, 3 cm3 d'acide sulfurique concentré et 30 grammes d'amidon ; agiter, munir le ballon d'un réfrigérant à reflux et porter à l'ébullition pendant 15 minutes. Filtrer et laver l'amidon soluble retenu sur le filtre, d'abord à l'eau froide, puis à l'alcool à 95° ; prolonger ces lavages de façon à éliminer complètement l'acide sulfurique. Laisser sécher à l'air. On obtient ainsi un amidon blanc nacré insoluble dans l'eau froide, très soluble dans l'eau chaude et très sensible quant à la coloration qu'il donne avec l'iode ».

2.) Préparation de l'empois d'amidon ; 2 g. de cet amidon soluble sont dissous dans un litre d'eau bouillante à laquelle on ajoute 5 cg. de chlorure mercurique.

L'ébullition est maintenue quelques minutes. L'amidon se dissout très facilement. Toutefois la solution se trouble après refroidissement.

On la filtre après 4 à 5 jours en la passant à plusieurs reprises sur un filtre en papier Chardin.

Cet empois d'amidon donne une coloration bleue intense avec l'iode et présente le très gros avantage de ne pas donner de grains se décolorant assez difficilement.

Tout empois d'amidon donnant vers la fin du virage des grains bleus en suspension dans un liquide incolore doit être rejeté ; en effet, tout retard dans la décoloration des grains rend le virage difficile à saisir en solutions diluées et entraîne généralement des erreurs par emploi d'un excès d'hyposulfite.

Solution titrée d'acétate de calcium M/4 (correspondant à 10,02 g. de Ca par litre.

Cette solution est préparée en dissolvant 12,500 grammes exactement pesés de carbonate de calcium précipité pur et sec, introduits dans une fiole jaugée de 500 cm3, par un léger excès d'acide acétique pur (environ 20 cm3). On complète à 500 cm3 avec de l'eau distillée vérifiée exempte de toute trace de calcium.

Cette solution est ensuite vérifiée :

a) Par pesée à l'état de SO^4Ca. Pour cela 10 cm3 de la solution sont évaporés en capsule de platine en présence d'un léger excès d'acide sulfurique (environ 2,6 à 2,7 cm3 de solution de SO^4H^2 à 10 p. 100). On calcine au rouge blanc et on pèse.

Le poids de SO^4Ca obtenu doit être de 0,3396 g. au milligramme près.

b) Par pesée à l'état de SO^4Ca après précipitation du calcium à l'état d'oxalate.

10 cm3 de la solution sont additionnés d'une quarantaine de centimètres cubes d'eau distillée, on porte à l'ébullition et on ajoute un excès soit 20 à 22 cm3 de solution chaude d'oxalate d'ammonium à 2 p. 100 (demi-saturation) ; on vérifie le pH à l'aide de la solution de rouge de méthyle et si nécessaire on l'ajuste à l'aide d'acide acétique ou d'ammoniaque

de façon à obtenir la teinte vieux rose. On laisse précipiter pendant 24 heures.

Le précipité est alors lavé par décantation à l'aide de la solution d'oxalate d'ammonium à 2 p. 100, puis entraîné sur le filtre (filtre sans cendres lavé aux acides) on sèche à l'étuve à 105°. On calcine au rouge blanc le filtre puis le précipité additionné d'un léger excès d'acide sulfurique. Si le carbonate de calcium employé dans la préparation de la solution est pur, on retrouve le même poids de sulfate de calcium que dans le dosage direct, soit : 0,3396 g. (après déduction du poids des cendres du filtre), au milligramme près.

Solution d'acétate de calcium M/400.

Cette solution est préparée de la façon suivante :

Solution d'acétate de calcium M/4	10,00	cm3
Acide acétique pur	5	cm3
Eau distillée rigoureusement exempte de calcium q.s. pour	1000	cm3

Cette solution renferme une quantité d'acétate de calcium correspondant à 100 mg. de calcium par litre.

Solution d'oxalate d'ammonium N/50.

20.00 cm3 de solution d'oxalate N/10 sont introduits dans une fiole jaugée de 100 cm3. On y ajoute 1.0 cm3 de solution officinale d'ammoniaque et on complète à 100 cm3 avec de l'eau distillée.

Cette solution, additionnée de deux fois son volume de la solution acétique d'acétate de calcium M/400 ou de solution de cendres d'un sérum dans l'acide acétique à 5 p. 1.000, donne un mélange de pH 5.0 (teinte vieux rose en présence de rouge de méthyle).

CHAPITRE III

CONSIDERATIONS GENERALES SUR LES MICRO-DOSAGES IODOMETRIQUES

De nombreuses techniques de dosage du calcium, en particulier celle de Velluz et Deschaseaux (158), celle de Cheymol (35), utilisent le titrage iodométrique terminal préconisé par Leulier, Velluz et Griffon (109).

Ce choix est très justifié car l'iodométrie est la méthode de choix que l'on devra employer toutes les fois qu'on le pourra, pour la terminaison de divers micro-dosages.

Nous avons montré (129) qu'il était facile en respectant certaines conditions, de titrer des quantités d'iode correspondant à 2 cm3 d'iode N/100 avec une précision de l'ordre de 0,5 p. 100.

Nous verrons que les micro-dosages manganimétriques et même les micro-dosages alcalimétriques sont beaucoup moins précis.

Les conditions à respecter pour obtenir un micro-dosage iodométrique précis sont les suivantes :

1° — **La totalité de l'iode à titrer doit être libre.**

Voici, en effet, les constatations que nous avons pu faire : Si l'on ajoute à 40 cm3 d'eau distillée **neutre** une très faible quantité d'iode, à savoir : 0,1 cm3 de solution d'iode N/100, le liquide reste absolument incolore. Si, à ce mélange, on ajoute alors 1 goutte de solution d'iodure de potassium à 10 p. 100, la teinte jaune de l'iode apparaît immédiatement et disparaît par addition de 0,1 cm3 d'hyposulfite de sodium N/100.

Cette coloration jaune due à l'iode, très nette avec 0,05 cm3 de solution d'iode N/100 dilués dans 10 cm3 d'eau additionnée de 1 cm3 de solution d'io-

dure de potassium à 10 p. 100 est encore appréciable lorsque le volume du liquide est porté à 60 cm3.

Lors du micro-dosage de l'iode par l'hyposulfite de sodium effectué sur 2 cm3 de solution centinormale, nous avons constaté que ce dosage n'était exact que si :

Ou bien : a) nous acidifions très légèrement au préalable la solution d'iode à titrer par une goutte d'acide acétique à 5 p. 1.000.

Ou bien : b) si en milieu neutre (pH compris entre 6,4 et 6,8) nous ajoutions à cette solution d'iode une quantité d'iodure de potassium telle que la concentration en iodure du milieu à la fin du dosage soit supérieure à 1 p. 100 (129).

Il est donc indispensable que le milieu soit : ou bien légèrement ioduré et faiblement acide (pH 4,0 environ) ou bien neutre mais renfermant plus de 1 p. 100 d'iodure de potassium pour que la totalité de l'iode soit titrable. Il va de soi que l'on peut sans inconvénient réunir ces deux conditions.

On peut penser soit que l'iode à cette dilution passe à l'état colloïdal d'un jaune bien moins accentué que la solution vraie dans l'iodure de potassium, ou même à l'état d'ion I_3,

soit plus probablement qu'il réagisse sur l'eau selon la réaction d'équilibre

$$I_2 + H_2O \rightleftarrows IOH + HI$$

selon un mécanisme tout à fait comparable à celui que Bougault (21) a mis en évidence dans la réaction d'équilibre entre l'iode et les alcalis.

2° Virage en présence d'empois d'amidon.

Les mêmes faits sont constatés en observant la coloration bleue obtenue par addition d'empois d'amidon. Cette coloration bleue est plus intense que la coloration jaune de l'iode ; mais toujours les dosages effectués en présence d'amidon sont identiques à ceux obtenus en l'absence de cet amidon qui n'intervient que comme renforçateur de coloration.

Nous n'avons pas constaté pour des concentrations en iodure comprises entre 1 p. 200 et 10 p. 100 de variations dans l'intensité de la coloration bleue due à l'amidon, préparé comme nous l'avons indiqué.

en fonction de la concentration en iodure ainsi que divers auteurs l'ont signalé.

Nous avons préparé 15 essais renfermant chacun 0,05 cm3 de solution d'iode N/100 et des quantités d'iodure de potassium variant entre 0,05 cm3 et 10 cm3 de solution à 10 p. 100.

L'addition d'empois d'amidon nous a donné dans tous ces essais des colorations bleues de même intensité.

La présence d'iodure est indispensable pour que la coloration apparaisse, mais des traces suffisent.

La concentration en iodure du milieu n'intervient pas pour faire varier l'intensité de la coloration due à l'empois d'amidon, mais elle intervient, comme nous l'avons vu plus haut, pour rendre libre et dosable en milieu neutre la totalité de l'iode

3° — **La libération de l'iode dans divers modes de titrage de l'hyposulfite.**

Les conditions d'acidité et de concentration en iodure du milieu ont été également étudiées par nous dans les diverses méthodes permettant d'effectuer le titrage de l'hyposulfite. Nous ne ferons que rappeler nos conclusions.

Dans le titrage de l'hyposulfite par un acide titré et le mélange iodure-iodate, la libération de l'iode vers la fin de la réaction s'effectue en milieu de moins en moins acide.

Il en résulte en microdosage des erreurs par défaut importantes, si l'on n'a pas le soin de faciliter cette libération de l'iode en augmentant la concentration en iodure de potassium et la concentration en iodate de potassium.

Nous avons trouvé (129) qu'une concentration en iodure de potassium de 3 p. 100 et une concentration en iodate de potassium de 0,5 p. 100 étaient nécessaires pour assurer une complète libération de l'iode en 3 minutes.

Par contre, lorsque l'on effectue le titrage de l'hyposulfite par une solution d'iodate titrée, on opère en milieu acide. Dans ces conditions une concentration en iodure de potassium de 1 p. 100 est suffisante

pour obtenir une libération totale de l'iode en trois minutes.

Il serait possible de réduire encore cette concentration en iodure en augmentant légèrement l'acidité du milieu que nous avons volontairement maintenue très faible. Dans le mode opératoire adopté par nous, la concentration en acide sulfurique est seulement de 0,08 p. 100, soit N/60.

4° — **L'erreur oxygène de Putzeys** (1).

En effet, si nous augmentons la concentration en acide du milieu nous constatons que l'iode libéré ayant été neutralisé par l'hyposulfite, rapidement le mélange redevient bleu. Si l'acidité du milieu est assez forte, la réapparition de la coloration bleue peut devenir assez rapide pour qu'il soit difficile de saisir le virage

C'est ce que Putzeys a appelé « l'erreur oxygène », cette libération d'iode ne se produisant pas, d'après cet auteur, dans une atmosphère d'azote ou de gaz carbonique.

Les dosages étant très difficiles à effectuer en atmosphère autre que l'air, nous nous contentons d'opérer en milieu faiblement acide, ce qui nous a toujours conduit à de très bons résultats.

5° — **Altération de la solution d'hyposulfite. Solution boratée de Dumazert.**

La solution titrée d'hyposulfite de sodium N/10 s'altère assez rapidement ; si elle a été préparée avec de l'eau distillée décarbonatée, cette altération est plus lente.

Les solutions N/100 et N/200 même faites avec de l'eau distillée rigoureusement neutre s'altèrent rapidement et il faut en pratique vérifier leur titre tous les jours.

Nous avons essayé d'utiliser la solution d'hyposulfite de sodium N/10 additionnée comme le préconise Dumazert (48) de 2 g. par litre de borate de soude.

Nous avons constaté, en effet, que les solutions

(1) Cité par Dumazert (48).

N/10 préparées dans ces conditions ne changeaient pratiquement pas de titre.

De même les solutions N/100 et N/200 préparées par dilution au 1/10e ou au 1/20e avec de l'eau distillée neutre de la solution d'hyposulfite N/10 boratée baissent de titre beaucoup moins vite que les solutions identiques préparées sans borate de soude. La baisse constatée ne dépasse pas 1 p. 100 en 5 à 6 jours.

Mais ces solutions ne peuvent être employées que si le milieu renfermant l'iode à titrer est acide. Nous avons, en effet, constaté que le titrage de l'iode en solution neutre par une solution d'hyposulfite boratée à 2 p. 1.000 est entâché, même en macrodosage, d'une erreur par défaut de 2 à 3 p. 100.

On peut titrer avec cette solution d'hyposulfite boratée une solution d'iode à condition d'acidifier légèrement celle-ci au préalable.

Le titrage de cet hyposulfite boraté par l'iodate acide titré est facile et très précis.

Par contre, cet hyposulfite boraté ne peut servir à doser l'iode dégagé par action d'un acide titré sur le mélange iodure-iodate. L'erreur atteint dans ce cas 5 à 6 p. 100.

Le titrage iodométrique du permanganate en milieu acide utilisé pour le dosage du calcium est rigoureusement exact avec cette solution d'hyposulfite boratée en macrodosage et en microdosage.

CHAPITRE IV

TITRAGE DES SOLUTIONS D'HYPOSULFITE

La solution d'iode N/100 changeant de titre assez rapidement ne peut être utilisée de façon habituelle pour la vérification des solutions d'hyposulfite.

Nous pouvons donc employer soit :

a) Une solution acide titrée à l'aide de laquelle on libère l'iode d'un mélange iodure-iodate.

b) Une solution titrée d'iodate de potassium dont on libère l'iode par addition d'iodure de potassium en milieu acide.

Nous avons étudié ces deux méthodes qui conduisent à la même précision.

A. — Microdosage des solutions d'hyposulfite N/100 et N/200 par un acide titré et le mélange iodure-iodate.

L'expérience nous a montré qu'il fallait introduire dans le mélange un excès suffisant d'iodate de potassium. Il faut réaliser une concentration minima de 0,5 p. 100 en IO^3K.

La concentration du milieu en iodure a une très grande importance.

Il faut un excès net d'iodure de potassium. Cet excès variable avec le volume total du liquide doit être de 2 à 3 p. 100 de ce volume.

Le dosage est effectué après trois minutes.

Voici comment nous procédons :

A. — Titrage de l'hyposulfite N/100.

Introduire successivement dans une fiole d'Erlemeyer de 60 cm3 bouchant à l'émeri :

Solution de IO^3K à 5 p. 100	1	cm3
Solution de KI à 10 p. 100	2	cm3
Acide sulfurique N/100 ...	2,00	cm3

Attendre 3 minutes exactement et ajouter 1 cm3 d'amidon. Titrer l'iode libéré avec la solution d'hyposulfite N/100.

Si la solution d'hyposulfite N/100 est exacte on emploiera exactement 2,00 cm3.

B. — **Titrage de l'hyposulfite N/200.**

Solution de IO^3K à 5 p. 100	1	cm3
Solution de KI à 10 p. 100	2	cm3
SO^4H^2 N/100	1,00	cm3

Attendre 3 minutes et ajouter 1 cm3 d'amidon. Titrer l'iode libéré avec la solution d'hyposulfite N/200.

Si cette solution est exacte on devra en employer exactement 2,00 cm3.

Cependant cette méthode reste très délicate. En effet, si la solution d'iodure employée ou bien si l'eau distillée employée dans la préparation des solutions ne sont pas rigoureusement neutres, la méthode est entachée d'erreurs pouvant être assez importantes.

Or, la neutralité des solutions d'iodure est assez difficile à obtenir de façon rigoureuse. De plus, il est nécessaire d'avoir toujours à sa disposition une eau distillée neutre, c'est-à-dire récemment décarbonatée. Ces conditions rendent cette méthode assez peu pratique.

La solution d'hyposulfite boratée, de meilleure conservation, ne peut pas être titrée par cette méthode.

Nous lui préférons de beaucoup la méthode suivante qui donne des résultats très rigoureux et constants, sans précautions particulières.

C. — **Microdosage des solutions d'hyposulfite N/100 et N/200 par une solution d'iodate titrée.**

Nous employons, pour cela, une solution d'iodate de potassium exactement au dixième de la solution

acide N/10 indiquée ci-dessus. La solution N/10 jaunit avec le temps mais ne change pratiquement pas de titre.

La conservation de la solution N/100 est elle-même pratiquement indéfinie.

La quantité très faible d'acide sulfurique que renferme cette solution (1 p. 100) est très suffisante pour assurer la libération complète de l'iode.

Il suffit d'ajouter à cette solution un excès suffisant d'iodure de potassium. Cet excès doit assurer une concentration minima de 1 p. 100 en KI.

Le titrage est fait après trois minutes exactement, ce temps est suffisant pour assurer la libération complète de l'iode de l'iodate. Un temps plus long est cause d'une erreur par excès qui n'est autre que « l'erreur oxygène » de Putzeys.

Voici comment nous opérons habituellement :

Dans une fiole d'Erlenmeyer en Pyrex bouchée à l'émeri de 60 cm3, nous introduisons successivement :

Solution acide d'iodate de K N/100	2,00	cm3
Eau distillée	2	cm3
Solution de KI à 10 p. 100	1	cm3

On laisse la libération de l'iode s'effectuer pendant trois minutes exactement. On ajoute 1 cm3 d'amidon et on titre l'iode libéré avec la solution d'hyposulfite N/100. Si cette solution est exacte, on en emploiera exactement 2,00 cm3.

Nous titrons de la même façon l'hyposulfite N/200, en employant :

Solution acide d'iodate de K N/100	1,00	cm3
Eau distillée	2	cm3
Solution de KI à 10 p. 100	1	cm3

Ce dosage est très précis. Les erreurs sont inférieures à 1 p. 100.

CHAPITRE V

MICRODOSAGE IODOMETRIQUE DU PERMANGANATE DE POTASSIUM

Le titrage iodométrique du permanganate de potassium est très précis et très constant dans certaines conditions.

On respectera les proportions suivantes :

Solution N/100 de permanganate de potassium	2,00	cm3
SO_4H_2 au 1/5	0,1	cm3
Solution de KI à 10 p. 100 ...	1	cm3

On laisse le mélange en contact pendant 30 secondes pour permettre la libération de l'iode. On ajoute 1 cm3 de réactif amidonné et on titre par l'hyposulfite N/100.

Dans ces conditions le virage est obtenu avec 2,00 cm3 d'hyposulfite de sodium N/100 à 1 p. 100 près.

Ces conditions sont les suivantes :

Concentration faible en acide sulfurique inférieure à 0,5 p. 100, dans le but d'éviter l'erreur oxygène.

Concentration suffisante en iodure de potassium devant atteindre au minimum 1 p. 100 du volume liquide dans le but de dissoudre et de rendre libre et titrable la totalité de l'iode.

La libération de l'iode est complète en moins de 30 secondes.

Les erreurs que l'on peut obtenir en appliquant cette méthode au dosage du calcium sont les suivantes :

1° — Erreur due à une trop forte concentration en acide.

Si l'on opère le dosage dans un milieu renfermant 4 p. 100 de son volume de SO^4H^2, on observe déjà une auto-réduction du permanganate de potassium qui sera d'autant plus importante que :

a) Le temps de contact entre le permanganate et l'acide sulfurique (avant l'addition d'iodure) aura été plus long.

b) La température de ce mélange acide-permanganate est plus élevée.

En milieu contenant 4 p. 100 de SO^4H^2 après dix minutes de contact à 100° on constate la disparition de 6 p. 100 du permanganate introduit.

2° — Erreur due à la présence de matières organiques.

Si le permanganate en milieu acide est en contact avec des substances organiques, on observe une réduction de permanganate d'autant plus importante que le milieu est plus acide, le temps de contact plus long et la température plus élevée.

Il suffit donc pratiquement d'opérer en milieu faiblement acide, à la température du laboratoire, et en l'absence de matières organiques, pour obtenir des dosages précis.

CHAPITRE VI

MICRODOSAGE DE L'ION OXALIQUE

Le dosage de l'ion oxalique peut être effectué de deux façons :

1° — Titrage direct par le permanganate de potassium à chaud.

2° — Titrage iodométrique du permanganate restant après réduction à froid par l'acide oxalique d'une partie du permanganate introduit en quantité connue et en excès.

A) **Les macrodosages de l'ion oxalique en solutions décinormales** nous ont conduit à des résultats très concordants par l'une ou l'autre de ces méthodes.

Les dosages sont précis et l'erreur obtenue en opérant sur 20 cm3 de solution décinormale ne dépasse pas 0,5 p. 100.

B) **Les macrodosages de l'ion oxalique en solutions centinormales** donnent des résultats différents suivant que l'on opère par l'une ou l'autre méthode.

Le titrage direct à chaud nécessite l'emploi d'une quantité de permanganate supérieure à celle théoriquement nécessaire.

La teinte du permanganate centinormal est relativement peu intense; on devra donc faire un témoin de coloration avec un volume d'eau égal au volume total du liquide sur lequel on a pratiqué le dosage.

Mais, même après correction, il reste une erreur par excès qui est habituellement de l'ordre de 1 p. 100.

Cette erreur déjà constatée par **Griffon, Leulier** et **Velluz** (109), puis par **Velluz** et **Deschaseaux** (156) est attribuée par ces auteurs, à une auto-réduction des solutions diluées de permanganate en milieu sulfuri-

que chaud, fait que nous avons également constaté et que nous avons signalé dans le chapitre précédent.

Par contre, le dosage iodométrique à froid nous a toujours conduit à des résultats exacts à 0,5 p. 100 près, si l'on respecte les conditions suivantes :

1°) Le temps d'oxydation doit être de dix minutes au moins.

2°) La concentration en SO_4H_2 doit être supérieure à 0,2 p. 100 en volumes. Nous avons adopté 0,5 p. 100.

3°) La concentration en KI doit être au moins de 1 p. 100.

C **Les microdosages de l'ion oxalique en solutions centinormales** conduisent aux résultats suivants :

a) Dosage direct à chaud.

Le virage étant très difficile à saisir avec la solution de MnO_4K N/100 et le dosage sur 20 cm3 étant déjà entaché d'une erreur de 1 p. 100, nous n'avons pas été surpris d'obtenir de fortes erreurs par excès, lorsque nous avons opéré sur 5 cm3, et à plus forte raison, sur 2 cm3 de solution N/100.

Le titrage direct n'offre aucune précision en microdosage.

b) Dosage à froid sur 2 cm3.

Voici les conditions dans lesquelles nous opérons :

Une quantité exactement connue d'oxalate (inférieure à celle contenue dans 2 cm3 de solution centinormale) est additionnée de 0,2 cm3 de SO_4H_2 au 1/5 en volumes et de 2,00 cm3 exactement mesurés de solution de MnO_4K N/100.

On agite et après dix minutes on ajoute 0,5 cm3 de solution de KI à 10 p. 100.

On attend 30 secondes, on ajoute alors 1 cm3 d'amidon et on titre l'iode libéré avec une solution d'hyposulfite de sodium N/200

Le dosage est exact à 1 p. 100 près.

Les conditions suivantes doivent être respectées pour que le dosage conserve sa précision.

1°) Temps d'oxydation de 10 minutes au moins.

L'oxydation est en réalité achevée vers la 7e ou la 8e minute à la température du laboratoire. Nous la laissons se poursuivre 10 minutes pour avoir une marge suffisante. Ce temps peut être prolongé sans inconvénient : le résultat est encore exact après plus de 30 minutes.

2°) La concentration en SO_4H_2 doit être d'environ 1 p. 100, soit 5 p. 100 d'acide sulfurique dilué au 1/5 en volumes (léger excès sans inconvénient).

3°) La concentration en KI doit être au minimum de 1 p. 100, soit 10 p. 100 de solution de KI au dixième (excès sans inconvénient).

MICRODOSAGE EN PRESENCE DE SO_4Mn

L'addition de SO_4Mn agissant comme catalyseur n'est pas nécessaire dans le dosage de l'ion oxalique par le permanganate en solutions pures, à condition de laisser à l'oxydation le temps de s'achever, soit une dizaine de minutes.

L'addition de SO_4Mn accélère la réaction sans modifier la précision du dosage.

Dans les microdosages effectués sur 2 cm3 de MnO_4K N/100, l'addition de DEUX gouttes d'une solution de SO_4Mn à 1 p. 100 accélère l'oxydation qui, dans ces conditions, et à la température ordinaire, est complète après 60 à 80 secondes.

Nous avons adopté comme temps minimum 2 minutes ; un temps plus long ne modifie pas le résultat.

La quantité d'hyposulfite utilisé est la même en présence de SO_4Mn après 2 minutes ou sans SO_4Mn après 10 minutes. La précision du dosage reste la même, soit 1 p. 100.

L'addition de SO_4Mn offre donc l'avantage de réduire le temps d'oxydation de l'acide oxalique par le permanganate.

INFLUENCE DES SELS MINERAUX

L'introduction de sels étrangers amène des perturbations légères dans le dosage du permanganate de

potassium par iodométrie. Une concentration en chlorure de sodium de 5 p. 100 donne de légères erreurs par défaut ne dépassant pas 2 p. 100 même si l'on prolonge pendant plus de 10 minutes le contact entre le permanganate acide et les chlorures.

Mais il n'en est pas de même lorsque ces sels minéraux sont présents pendant que se fait la réduction du permanganate par l'ion oxalique.

Si à n cm3 (inférieur à 2 cm3) d'oxalate N/100 on ajoute 0,2 cm3 d'acide sulfurique au 1/5 et 1 cm3 d'une solution d'un sel minéral, puis 2 cm3 de MnO_4K N/100 on trouve lors du dosage du permanganate restant des chiffres trop faibles.

Ces erreurs par excès de réduction du permanganate par l'oxalate en présence de sels minéraux sont variables suivant la nature des sels minéraux introduits et suivant leur concentration. Importantes en l'absence de SO_4Mn, ces erreurs sont faibles en présence de ce sel.

Pour une concentration en NaCl	En l'absence de SO_4Mn l'erreur est de	En présence de SO_4Mn l'erreur est de
en NaCl de 1,5 %	— 6 %	— 1 %
— 5 %	— 10 %	— 1,5 %
NH_4Cl de 5 %	— 1 %	— 1 %
KCl 5 %	— 4 %	— 2 %
SO_4Mg 5 %	— 6,5 %	— 3 %

Nous avions pensé que l'acidité du milieu pouvait être en cause ; or, en faisant varier les quantités d'acide sulfurique introduites ou en ajoutant des substances tampons on obtient les mêmes résultats tant que le pH reste inférieur à 5,5 ou 6.

Seule l'addition de SO_4Mn diminue de beaucoup les erreurs qui ne dépassent jamais alors 3 p. 100. Deux gouttes d'une solution de SO_4Mn à 1 p. 100 sont suffisantes ; une quantité supérieure conduit aux mêmes résultats.

L'action des quelques sels minéraux essayés sur la réaction d'oxydation de l'ion oxalique par le permanganate conduit à la destruction d'une quantité de permanganate supérieure à la quantité détruite par le seul ion oxalique ; le sulfate de manganèse annihile presque complètement cette action.

En présence d'une solution de sels minéraux identique à la solution de cendres de 5 cm3 de sérum sanguin, le dosage est exact à 1 p. 100 près que l'on opère avec ou sans sulfate de manganèse employé comme catalyseur (deux gouttes de solution à 1 p. 100).

Leulier, Velluz et **Griffon** (109) avaient déjà constaté ces erreurs par défaut et avaient montré que l'introduction du sulfate de manganèse employé comme catalyseur les réduisait considérablement.

Pour **Zimmermann** et **Kessler** le sulfate de manganèse agirait en annihilant l'influence de l'HCl capable de désoxyder le MnO^4K (1).

Or nous constatons que les chlorures de sodium et de potassium donnent des erreurs, alors que celui d'ammonium n'en donne pas. De plus, le sulfate de magnésium donne des erreurs du même ordre de grandeur.

La théorie de ces auteurs ne rend pas compte de ces faits.

En conclusion :

Le microdosage de l'ion oxalique par le permanganate à chaud n'offre pas une précision suffisante.

Le microdosage à froid avec terminaison par iodométrie offre en solution pure une précision de 1 p. 100 en présence ou non de sulfate de manganèse.

En présence d'une certaine concentration en sels minéraux divers ces dosages sont entachés d'erreurs par défaut en l'absence de SO^4Mn.

En présence de ce sel les erreurs ne dépassent jamais 3 p. 100.

En présence de sels minéraux à la concentration où on les rencontre dans le sérum sanguin, la précision est la même qu'en solutions pures (1 p. 100).

L'addition de sulfate de manganèse présente l'avantage de réduire de 10 à 2 minutes le temps de la réaction et donne beaucoup plus de sécurité dans le dosage qui conserve sa précision en présence des sels minéraux à une concentration supérieure à celle que l'on rencontre dans les dosages biologiques.

(1) In Denigès : *Précis de chimie analytique*, 4 édit. 1913, p. 587 (45).

MICRODOSAGE DE L'OXALATE DE CALCIUM

La seule difficulté dans les dosages du calcium à l'état d'oxalate de calcium est d'obtenir une précipitation totale de calcium et de débarrasser sans aucune perte l'oxalate de calcium obtenu de l'excès de réactif précipitant.

La terminaison du dosage d'un précipité contenant environ 0,2 mg. de Ca est par contre facile.

A. — **Dissolution de l'oxalate de calcium.**

L'oxalate de Ca est dissous dans l'acide sulfurique dilué. Pour cela on verse dans le tube contenant le précipité d'oxalate 5 gouttes d'une solution d'acide sulfurique pur à 5 p. 100 (en volumes), puis on y introduit un petit agitateur en verre. On met le précipité en suspension dans la solution acide et on chauffe le tube en plongeant sa partie inférieure dans un bain-marie bouillant.

Les quantités d'acide introduites sont variables suivant les différents auteurs.

Nous avons constaté que les faibles quantités d'acide adoptées par **Cheymol,** à savoir : 5 gouttes de SO_4H_2 à 5 p. 100 en volumes étaient préférables.

Cette concentration en acide est suffisante pour assurer, en s'aidant de la chaleur du bain-marie, une dissolution complète de l'oxalate de calcium.

Elle est suffisante pour que l'oxydation de l'ion oxalique par le permanganate soit complète.

Elle assure une libération complète de l'iode lors de l'action de l'iodure sur le permanganate.

Elle est par contre insuffisante pour entraîner une auto-réduction du permanganate.

Le volume liquide, lors du dosage iodométrique terminal, étant supérieur à 2 cm3, la concentration en acide devient inférieure à 0,6 p. 100 et l'erreur oxygène n'est plus à craindre, le rebleuissement de l'essai étant très lent.

B. — **Dosage de l'ion oxalique.**

Il importe de refroidir la solution sulfurique ainsi obtenue avant d'y introduire le permanganate

pour éviter l'auto-réduction de ce réactif. Pour cela nous plongeons le tube aux deux tiers dans un bain d'eau froide.

Nous ajoutons alors :

Deux gouttes d'une solution de sulfate de manganèse à 1 p. 100, 1,00 cm3 d'une solution environ N/50 de MnO_4K.

Après deux minutes on ajoute 0.5 cm3 d'une solution de KI à 10 p. 100 et on titre l'iode libéré avec une solution d'hyposulfite de sodium N/200.

La solution de permanganate est titrée dans les mêmes conditions par iodométrie à l'aide de la solution d'hyposulfite N/200.

L'addition de sulfate de manganèse comme catalyseur n'est pas nécessaire dans ce dosage puisque nous dosons l'ion oxalique en l'absence de sels minéraux étrangers. Elle présente cependant l'avantage de réduire de 10 à 2 minutes le temps de réaction.

L'emploi du sulfate de manganèse comme catalyseur a été préconisé par **Leulier**, **Velluz** et **Griffon** (109). **Velluz** et **Deschaseaux** (157), puis **Cheymol** (35) suppriment l'emploi de ce sel et effectuent leur titrage après 5 minutes.

Nous avons constaté que l'oxydation de l'ion oxalique n'était pas toujours complète après 5 minutes à une température inférieure à 20°.

Nous conseillons donc de prolonger cette oxydation pendant 10 minutes en l'absence de sulfate de manganèse ou de préférence de recourir systématiquement à l'emploi de ce catalyseur.

CHAPITRE VII

MICRODOSAGE DU CALCIUM EN SOLUTION PURE

Selon les techniques de Velluz et Deschaseaux et de Cheymol

Ayant ainsi précisé les conditions permettant de doser avec une précision de 1 p. 100 des quantités d'oxalate de calcium de l'ordre du demi-milligramme (correspondant à des quantités de calcium de l'ordre du cinquième de milligramme) nous avons cherché ensuite à doser le calcium contenu dans notre solution pure d'acétate de calcium M/400.

Nous avons effectué nos dosages en respectant les conditions suivantes :

I. — *Prise d'essai.* Nos dosages ont porté sur des quantités de calcium variant entre 0,1 mg. et 0,3 mg. (soit de 1 cm3 à 3 cm3 de notre solution d'acétate de calcium M/400).

II. — *Concentration en calcium de la solution.* Le volume total de la solution calcique ayant été amené à 3 cm3 au maximum dans ces différents dosages, il en résulte que la concentration en calcium de la solution n'a jamais été inférieure à 3 p. 100.000.

III. — *Choix du réactif précipitant.* La précipitation du calcium dans ces différents essais a été effectuée avec l'oxalate d'ammonium.

IV. — *Excès du réactif précipitant.* Nous avons employé la dose d'oxalate d'ammonium indiquée par **Cheymol** (35) à savoir : 0,5 cm3 de solution N/10 d'oxalate d'ammonium. Dans ces conditions la quantité d'oxalate d'ammonium introduite varie de 3,3 fois à 10 fois celle utilisée pour la formation du précipité d'oxalate de calcium.

V. — *pH de la solution.* La solution d'acétate de

calcium renferme 5 g. d'acide acétique par litre. 2 à 3 cm3 de cette solution additionnés de 0,5 cm3 d'oxalate d'ammonium N/10 donnent un mélange qui, additionné de rouge de méthyle, fait virer ce colorant à la teinte rose.

On obtient ainsi un ajustement automatique du pH. En effet, l'addition de solution de rouge de méthyle dans les dosages donne d'après **Bull** (26), **Grigaut** et **Ornstein** (52) et **Cheymol** (35) des erreurs par excès dues à la fixation du colorant sur l'oxalate de calcium.

VI. — *Composition de la solution.* La liqueur au sein de laquelle se fait la précipitation de l'oxalate de Ca ne renferme donc que de l'oxalate d'ammonium en excès et environ 6,5 p. 1.000 d'acétate d'ammonium. Elle ne renferme pas de chlorure d'ammonium.

VII. — *Précipitation du calcium.* Dans ces conditions, la précipitation du calcium commence dès l'addition de l'oxalate, elle est rapidement totale. Elle est habituellement achevée en 10 ou 15 minutes à la température du laboratoire. Néanmoins, nos dosages par cette méthode ont été faits en portant ce temps de précipitation à 1 heure.

VIII. — *Isolement du précipité.* L'isolement du précipité a été effectué par centrifugation de 10 minutes à 3.500 tours minute.

Le liquide est décanté à l'aide du petit appareil d'aspiration décrit par **Cheymol.**

IX. — *Lavage du précipité.* Nous l'effectuons selon la technique de **Velluz** et **Deschaseaux** (158) mais en réduisant encore le nombre des lavages déjà réduit par **Cheymol** (35).

Nous faisons un seul lavage avec le mélange : eau-alcool-éther (2 pour **Cheymol,** 3 pour **Velluz** et **Deschaseaux**), puis comme ces auteurs, un lavage à l'alcool-éther et un lavage à l'éther.

On élimine ensuite toute trace d'éther en plongeant les tubes aux deux tiers dans l'eau distillée bouillante. Par précaution nous les maintenons pendant une minute au moins.

Nous n'avons jamais eu dans ces conditions d'erreurs dues à la présence de traces d'éther non évaporé ainsi que le redoute **Guillaumin** (64).

X. — *Résultats.* Nous avons obtenu les résultats suivants pour quatre dosages effectués dans ces conditions :

Ca en mg. dans la prise d'essai	0,100	0,200	0,200	0,300
Ca trouvé	0,98	0,203	0,195	0,298
Erreur	—2 %	+1,5 %	—2,5 %	—0,7 %

Ces résultats sont absolument concordants avec ceux obtenus par **Vellus** et **Deschaseaux** et par **Cheymol.**

CHAPITRE VIII

DOSAGE DU CALCIUM EN SOLUTION PURE PAR TITRAGE DU REACTIF OXALIQUE INTRODUIT EN EXCES CONNU

Le seul reproche que l'on puisse adresser à la méthode de **Velluz et Deschaseaux** (156), c'est que son exécution est très longue et délicate.

Nous avions pensé qu'il devait être beaucoup plus rapide pour doser le calcium d'une solution de titrer le réactif oxalique restant après séparation du précipité d'oxalate de calcium.

Pour qu'un dosage par retour reste précis, il est nécessaire que le rapport entre la quantité de réactif titrant introduit et la quantité de réactif utilisé soit faible. Nous avons cherché à ne jamais mettre en réaction une quantité d'oxalate supérieure à 2 ou 3 fois celle théoriquement nécessaire.

Il faut, pour que la précipitation du calcium soit complète en présence d'un aussi faible excès d'oxalate, opérer dans des conditions nettement déterminées.

Nous allons exposer les recherches faites et les résultats obtenus.

Principe

Un volume exactement mesuré de la solution calcique est additionné d'un volume exactement mesuré d'une solution titrée d'oxalate. Après précipitation complète de l'oxalate de calcium on filtre le liquide sur un filtre en pâte de verre.

On prélève un volume déterminé de ce filtrat dans lequel on dose l'oxalate restant par manganimétrie.

Macrodosage du calcium

On place dans une fiole d'Erlenmeyer 20,00 cm3 de la solution renfermant des doses de calcium variant entre 1 et 2 mg. et on y ajoute 20,00 cm3 d'une solution d'oxalate d'ammonium environ N/100. On bouche les fioles, on mélange et on laisse au repos pendant 60 minutes.

On filtre alors la solution sur filtre en pâte de verre Iéna G4.

On prélève 30,00 cm3 de ce filtrat que l'on introduit dans une fiole d'Erlenmeyer de 120 cm3 bouchant à l'émeri ; on y ajoute 1 cm3 de SO_4H_2 au 1/5 (en volumes) et 20,00 cm3 d'une solution de permanganate de potassium environ N/100. On laisse au repos dix minutes (ou deux minutes si l'on a ajouté dix gouttes de solution de sulfate de manganèse à 1 p. 100). On ajoute alors 10 cm3 d'une solution de KI à 10 p. 100.

Après 30 secondes on titre l'iode libéré en présence de 1 cm3 d'empois d'amidon. Un témoin de titrage de l'oxalate est fait avec 20,00 cm3 d'eau distillée et 20,00 cm3 de la solution d'oxalate. 30,00 cm3 de ce mélange sont traités exactement comme les filtrats précédents en employant les mêmes réactifs mesurés avec les mêmes pipettes.

Voici un exemple de trois dosages effectués de cette façon et les résultats obtenus :

	1	2	3
Solution d'acétate de Ca M/400 en cm3	12,0	15,0	19,0
Ca en mg. trouvé dans la prise d'essai	1,20	1,49	1,89
Ca introduit	1,20	1,50	1,90

La précipitation du calcium s'est effectuée en milieu présentant les caractéristiques suivantes :

I. — La concentration du calcium a varié entre 3 p. 100.000 et 5 p. 100.000.

II. — La concentration en oxalate était de N/200.

III. — L'excès d'oxalate a varié entre 2 fois et 5,5 fois.

Les erreurs ont toujours été inférieures à 0,5 p. 100.

Microdosage du calcium

La précipitation de quantités de calcium comprises entre 0,2 et 0,6 mg. en solution dans 6 cm3 d'eau est effectuée en fiole d'Erlenmeyer de 60 cm3 par 2 cm3 de solution d'oxalate N/50. On laisse au repos pendant une heure et on filtre sur Iéna G4. La prise d'essai du filtrat, soit 6,00 cm3, est introduite dans une fiole d'Erlenmeyer de 60 cm3 bouchant à l'émeri, additionnée de 0,5 cm3 d'acide sulfurique au 1/5 et de 2,00 cm3 de permanganate N/50. On mélange et on laisse en contact 10 minutes (ou 2 minutes si l'on a ajouté 2 gouttes de solution de SO_4Mn). On ajoute alors 1 cm3 de solution d'iodure à 10 p. 100. Après 30 secondes on titre en présence d'empois d'amidon par l'hyposulfite N/200.

Voici un exemple de cinq microdosages effectués de cette façon :

	1	2	3	4	5
Solution d'acétate de Ca M/400 en cm3	2,00	3,00	4,00	5,00	6,00
Ca en mg. trouvé dans prise d'essai	0,200	0,304	0,400	0,509	0,600
Ca introduit	0,200	0,300	0,400	0,500	0,600

La concentration en calcium a varié entre 2,5 p. 100.000 et 7,5 p. 100.000.

La concentration en oxalate était de N/200.

L'excès d'oxalate a varié entre 1,3 fois et 4 fois.

Les erreurs ont toujours été inférieures à 2 p. 100.

Les nombreux dosages que nous avons faits suivant cette micro-méthode de dosage du calcium nous ont permis de préciser les points suivants :

Concentration en calcium.

La précipitation du calcium en solution pure (absence de tout sel minéral autre que le calcium) se fait totalement, même si la concentration en calcium du

milieu où se fait la précipitation est très faible (1 pour 100.000).

Concentration en oxalate.

La concentration en oxalate de ce milieu peut être faible et inférieure à N/200.

Excès d'oxalate.

L'expérience nous a montré qu'il fallait, pour précipiter le calcium, employer toujours un léger excès d'oxalate. Cet excès doit être au moins de un quart en plus de la quantité théorique. Lorsque cet excès est abaissé de 1/5e à 0, une fraction du calcium comprise entre 3 et 15 p. 100 échappe à la précipitation.

Par contre, des erreurs par excès apparaissent lorsque l'excès d'oxalate dépasse quatre fois la quantité nécessaire et ces erreurs vont en croîssant lorsque croît cet excès. Nous trouvons une erreur de +4 p. 100 pour un excès d'oxalate de 4,5 fois et de +10 p. 100 pour un excès d'oxalate de 6 fois.

Ces erreurs sont attribuables à l'adsorption d'une partie du réactif oxalique par le précipité d'oxalate de calcium.

Temps de précipitation.

Lorsque l'on emploie l'excès d'oxalate indiqué ci-dessus, la précipitation du calcium en solution pure est toujours complète en moins d'une heure à la température du laboratoire.

Lorsque la concentration en oxalate est maintenue aux environs de N/200 et que l'excès d'oxalate est d'environ deux fois la quantité théorique, il n'y a pas d'adsorption d'oxalate par le précipité, même si le temps de précipitation est prolongé pendant 30 heures.

Voici les chiffres obtenus lors de cinq de ces essais :

Solution d'acétate de calcium M/400....	4,00 cm3	4,00 cm3	4,00 cm3	4,00 cm3	4,00 cm3
Solution d'oxalate N/50..	2,00 cm3	2,00 cm3	2,00 cm3	2,00 cm3	2,00 cm3
Temps de précipitation ..	1 h.	2 h.	5 h.	15 h.	30 h.
Calcium trouvé (rapporté au litre	100 mg.	98 mg.	98 mg.	98,5 mg.	98,5 mg.
Erreur	—1 %	—2 %	—2 %	—1,5 %	—1,5 %

Filtration.

La précipitation à froid de l'oxalate de calcium donne toujours un précipité dont les grains sont d'une taille suffisante pour ne pas traverser les filtres Iéna G4

pH

Dans tous ces essais le pH a été vérifié sur le filtrat restant après prélèvement de la prise destinée au dosage de l'oxalate restant. Il était toujours compris entre 5,0 et 5,4.

REMPLACEMENT DE LA FILTRATION PAR LA CENTRIFICATION

Les microfiltres se colmattant rapidement, la filtration sur plaque d'Iéna G4 devient souvent difficile. Nous avons constaté que la centrifugation nous donnait de tout aussi bons résultats. En effet, après cinq minutes de centrifugation à 3.500 tours, le précité est totalement rassemblé dans la pointe du tube et y adhère suffisamment pour que l'on puisse vider le liquide surnageant sans précautions particulières et sans qu'une partie du précipité soit entraînée. Néanmoins, par précaution, nous avons dans tous nos dosages effectués par cette méthode porté le temps de centrifugation à 10 minutes (à 3.500 tours).

Les dosages de vérification de cette technique, en vue de son application au dosage du calcium contenu dans 2 cm3 de sérum sanguin, ont été faits de la façon suivante :

2,00 cm3 de solution d'acétate de calcium M/400 sont introduits dans un tube à centrifuger conique de 15 à 20 cm3 et on ajoute 1,00 cm3 de la solution d'oxalate d'ammonium N/50 alcalinisée par l'ammoniaque (voir page 17), on mélange, on bouche le tube et on laisse la précipitation s'effectuer pendant une heure.

On centrifuge pendant 10 minutes à 3.500 tours.

On vide le liquide dans un petit tube et on en prélève 2,50 cm3 que l'on introduit dans une fiole d'Erlenmeyer de 30 cm3. On ajoute 0,2 cm3 d'acide

sulfurique au 1/5, 1,00 cm3 de solution de permanganate environ N/50 et deux gouttes de solution de sulfate de manganèse à 1 p. 100. On mélange et on laisse en contact pendant 3 minutes. On ajoute alors 0,5 cm3 de solution d'iodure de potassium à 10 p. 100, et après 30 secondes on titre l'iode libéré à l'aide de la solution d'hyposulfite de sodium N/200 en ajoutant vers la fin du virage 10 gouttes de solution d'amidon.

On fait un témoin dans les mêmes conditions avec 2,00 cm3 d'eau distillée et 1,00 cm3 de solution d'oxalate N/50. On prélève 2,50 cm3 que l'on traite comme précédemment par les mêmes quantités des mêmes réactifs, soit 0,2 cm3 d'acide sulfurique au 1/5, 1,00 cm3 de permanganate N/50, deux gouttes de solution de sulfate de manganèse et 0,5 cm3 de solution d'iodure, ces réactifs étant mesurés avec les mêmes pipettes.

La précision reste la même que celle obtenue en employant la filtration sur micro-filtres d'Iéna ; les erreurs sont inférieures à 2 p. 100.

CHAPITRE IX

MICRODOSAGE DU CALCIUM EN PRESENCE DE SELS MINERAUX

Lorsque la précipitation du calcium est effectuée par un fort excès d'oxalate, condition adoptée dans les micro-méthodes basées sur l'isolement et le lavage du précipité d'oxalate, cette précipitation est totale en présence de sels minéraux aux doses où l'on est susceptible de les rencontrer dans les milieux biologiques.

Il n'en est pas de même lorsque la précipitation du calcium doit être effectuée en présence d'un excès relativement faible d'oxalate.

Lors du dosage du calcium par notre micro-méthode par retour, les sels minéraux contenus dans la solution donnent des erreurs de deux ordres :

1°) Erreurs par défaut dues à une action retardatrice et même empêchante apportée par ces sels à la précipitation du calcium.

2°) Erreurs par défaut dues à l'action de ces sels lors du dosage de l'oxalate restant. Nous avons vu que cette erreur pouvait être évitée en opérant le dosage de l'oxalate en présence de sulfate de manganèse.

Action retardatrice ou empêchante des sels minéraux sur la précipitation du calcium

Si on effectue la précipitation de 0.2 mg. de calcium en solution acétique additionnée de divers sels minéraux, par une dose d'oxalate double de celle théoriquement nécessaire, on constate que la précipitation du calcium est très lente et incomplète en présence de certains sels.

Voici les résultats obtenus lors d'essais de précipitation du calcium en milieu contenant : 1°) 16

pour 1.000 et 2° 3 p. 1.000 de NaCl ou des quantités équimoléculaires de divers autres sels.

La notation adoptée est la suivante : Traces = précipitation très faible ; + = quantité de calcium précipité faible environ 10 à 30 p. 100 ; + + = environ 50 p. 100 du calcium précipité ; + + + = calcium précipité presque totalement ; totale = calcium totalement précipité.

	10 min.	20 min.	30 min.		1 min.	3 min.	10 min.
NaCl	16 p. 1.000	Traces	+	+	8 p. 1.000	Traces	Traces	+
NH^4Cl	14 p. 1.000	Traces	++	++	9 p. 1.000	Traces	Traces	+
KCl	17 p. 1.000	+	++	++	8,5 p. 1.000	+	+	++
NO^3Na	23 p. 1.000	+	++	++	11,5 p. 1.000	+	+	++
$CH^3-COONa$	22 p. 1.000	+	++	++	11 p. 1.000	++	++	+++
PO^4Na^2H	19 p. 1.000	++	++	+++	9,5 p. 1.000	++	+++	totale

Ceci nous montre donc que les différents sels introduits en quantités équimoléculaires ont une action retardatrice ou empêchante très variable. Cette action semble due à la nature de l'anion plus encore qu'à celle du cation.

Les chlorures sont parmi les sels employés ceux dont l'action retardatrice est la plus marquée. Les acétates et les phosphates sont ceux en présence desquels la précipitation du calcium se fait le plus rapidement.

Parmi les cinq chlorures essayés c'est celui de sodium dont l'action retardatrice est la plus nette, suivi de près par le chlorure d'ammonium.

Cette action empêchante de l'ion sodium avait été notée par de nombreux auteurs. Nous avons cherché à vérifier cette action de l'ion sodium seul.

Pour cela nous avons effectué la précipitation de notre solution d'acétate de calcium par une solution titrée d'oxalate de sodium employée au lieu et place de la solution d'oxalate d'ammonium.

Nous avons trouvé les chiffres suivants :

Calcium introduit en mg	0,50	0,100	0,120
Concentration en calcium du mélange	1,25 p. 100.000	2,50 p. 100.000	3 p. 100.000
Calcium trouvé	0,040	0,093	0,120
Erreur	—20 p. 100	—7 p. 100	<1 p. 100

La concentration en sodium du milieu où s'effectuait la prépicipitation était de 1/200e d'atome par litre.

Nous constatons donc que lorsque l'ion sodium est présent à la dose de 0,11 g. de Na métal par litre, la précipitation n'est complète en une heure que si la concentration en calcium du milieu où se fait la précipitation est supérieure à 3 p. 100.000.

Nous avons constaté au contraire qu'en l'absence de l'ion sodium (la précipitation étant effectuée par l'oxalate d'ammonium) la précipitation du calcium est complète même lorsque la concentration en calcium descend au-dessous de 1 p. 100.000.

L'action empêchante de l'ion sodium est donc évidente.

Lorsque le sodium est introduit sous forme de chlorure de sodium cette action est encore beaucoup plus prononcée. Voici quelques-uns des résultats obtenus :

2,00 cm3 de solution d'acétate de calcium M/400 sont additionnés de 1,00 cm3 d'oxalate N/50 et de 1,00 cm3 de solutions de NaCl à concentrations croissantes ; l'oxydation du permanganate est effectuée en présence de SO4Mn pour éliminer l'erreur due à la présence du NaCl sur le dosage oxalimétrique.

Dans ces cinq essais la concentration en calcium est de 5 p. 100.000.

La quantité d'oxalate mise en réaction est le double de celle théoriquement nécessaire.

Calcium introduit en mg.	0,200	0,200	0,200
Concentration en NaCl du mélange	5 p. 1.000	25 p. 1.000	50 p. 1.000
Calcium trouvé	0,198	0,184	0,146
Erreur	—1 p. 100	—8 p. 100	—27 p. 100

D'autres dosages nous ont montré que l'erreur ne dépasse pas —3 p. 100 tant que la concentration en NaCl du mélange ne dépasse pas 16 p. 1.000.

Influence des sels minéraux introduits en quantité analogue à celle contenue dans le serum sanguin

Nous avons préparé la solution suivante conte-

nant les éléments minéraux (à l'exception du magnésium) à une dose égale à celle contenue dans le sérum sanguin.

Bicarbonate de soude	2,23	g.
Lessive de soude 1,32 B	14	cm3
Lessive de potasse	0,8	cm3
Acide phosphorique pur	0,2	cm3
SO_4H_2 pur	0,15	cm3
HCl pur	8,8	cm3
H_2O q.s.p	1.000	cm3

De nombreux essais nous ont montré que le dosage du calcium en solution dans un tel milieu nous conduisait toujours à des résultats exacts à 2 p. 100 près, le titrage oxalimétrique étant effectué en présence de sulfate de manganèse.

Nous pouvons donc déduire de tous ces résultats que le microdosage du calcium par un faible excès d'oxalate en présence de sels minéraux (à une dose inférieure à 15 p. 1.000) est exact à 2 p. 100 près si les conditions suivantes sont respectées :

La concentration en calcium du milieu où se fait la précipitation doit être supérieure à 5 p. 100.000.

La concentration en oxalate optima est de N/150 à N/200.

L'excès d'oxalate doit être au moins de 1/5 en plus de la quantité théoriquement nécessaire.

Le titrage de l'ion oxalique doit être effectué en présence de sulfate de manganèse.

Dans ces conditions, en effet, le calcium est totalement précipité à froid en moins d'une heure, le précipité ne traverse pas le filtre d'Iéna G4 et se sépare très bien par centrifugation et il n'y a pas d'absorption de l'oxalate en excès par le précipité, même si l'on prolonge le temps de précipitation. Le titrage oxalimétrique terminal est exact.

Parmi les méthodes à l'oxalate avec isolement par centrifugation du précipité la méthode de **Cheymol** (35) est celle où l'on emploie la plus faible quantité de réactif oxalique.

Dans cette méthode la précipitation du calcium

pour un sang normal s'effectue dans les conditions suivantes :

Concentration en calcium .	3,5 p 100.000
Concentration en oxalate .	N/90
Excès d'oxalate	6, 2 fois
Concentration en Na Cl ..	environ 2,5 p. 1.000

Nous voyons que ces conditions sont assez voisines de celles que l'expérience nous a montrées comme étant des conditions optima.

Influence du magnesium

La question de la précipitation du magnésium lors du dosage du calcium par oxalimétrie étant discutée, nous avons effectué plusieurs séries de microdosages du calcium en présence de magnésium.

Nous avons d'abord constaté que dans les conditions dans lesquelles nous opérons, c'est-à-dire en présence d'une faible concentration en oxalate (N/150) et à pH compris entre 5,0 et 5,4 on n'observe aucune précipitation de solutions pures de sels de magnésium, même après 24 heures de contact.

Si nous augmentons la quantité d'oxalate en utilisant une quantité double de celle que nous employons habituellement pour précipiter le calcium et portons la concentration en oxalate à N/100, nous ne constatons encore aucune précipitation d'oxalate de magnésium.

Cinq dosages effectués dans ces conditions avec des solutions de chlorure de magnésium correspondant à 25 mg. de magnésium par litre (teneur normale du sérum sanguin en magnésium) 50 mg., 125 mg., 250 mg., et 500 mg. nous montrent que tout l'oxalate d'ammonium est, après 24 heures, resté en solution, et nous trouvons des chiffres identiques à ceux du témoin à + 0,5 p. 100 près

Les dosages de 2,00 cm3 de solution d'acétate de calcium M/400 en présence de sels de magnésium ajoutés à des concentrations croissantes de 25 à 250 mg. p 1.000 nous donnent des résultats exacts à $\pm$ 2 p. 100 près, le temps de précipitation étant de 1 heure et l'excès d'oxalate étant de 4 fois la quantité

utilisée pour la précipitation du calcium avec une concentration de N/150.

Nous avons refait des dosages identiques en portant le temps de précipitation à 24 heures et à 48 heures, et nous avons obtenu des résultats identiques. L'erreur ne dépasse pas ± 2 p. 100, soit celle observée en l'absence de magnésium.

Voici les résultats obtenus sur une série de cinq dosages effectués après avoir laissé la précipitation du calcium par l'oxalate se poursuivre pendant 48 heures en présence de doses croissantes de magnésium.

Ca introduit par litre	100 mg	100 mg	100 mg	100 mg	100 mg
Mg introduit par litre	0	25 mg	50 mg	125 mg	250 mg
Ca trouvé par litre	99,6 mg	99,3 mg	100,2 mg	99,6 mg	100,8 mg

Nous avons constaté par contre que lorsque la concentration en chlorure de magnésium atteint 2 p. 1.000 on trouve dans le dosage du calcium une erreur par défaut d'environ 6 p. 100.

Lorsque cette concentration est élevée à 4 p. 100 l'erreur atteint 25 p. 100.

Nous constatons donc que les sels de magnésium, même à des doses dix fois supérieures à celles contenues dans le sérum sanguin et dans les conditions où nous opérons (en présence d'un faible excès d'oxalate et en milieu faiblement acide), ne sont nullement précipités ; mais au contraire, comme la plupart des sels minéraux, ils ont, lorsque leur concentration s'élève, une influence empêchante nette sur la précipitation du calcium.

Nous pouvons donc déduire de toutes ces recherches que la plupart des sels minéraux ont une influence retardatrice et même empêchante sur la précipitation du calcium effectuée par un très faible excès d'oxalate.

Pour que cette influence empêche la précipitation de la totalité du calcium en 1 heure, il faut que les sels minéraux soient présents à une certaine concentration dans le milieu (de 4 à 15 p. 1.000 suivant les sels).

Par contre, l'ensemble des sels minéraux à la dose où on les trouve dans le sérum sanguin n'entraîne aucune perturbation dans le dosage du calcium.

CHAPITRE X

INFLUENCE DE LA CALCINATION

Le dosage du calcium ne peut être effectué de façon précise dans un milieu renfermant des substances organiques susceptibles d'être absorbées par le précipité d'oxalate et de réduire le permanganate.

Guillaumin (64) a montré que la destruction de la matière organique dans les milieux renfermant le calcium à doser était nécessaire.

Dans les plupart des techniques de dosage du calcium on pratique la minéralisation des produits biologiques par calcination en capsule de platine.

Nous avons voulu vérifier d'abord en solutions pures que cette calcination n'entraînait pas d'erreurs par pertes de calcium, par projection ou par fixation de calcium par le métal au rouge.

Nous avons pour cela évaporé, en capsules de platine à l'étuve à 100°, des quantités exactement mesurées de notre solution d'acétate de Ca M/400. Après dessiccation complète nous avons calciné l'acétate de calcium à l'aide d'un bec Bunsen, la capsule étant placée sur une toile métallique garnie d'amiante, dans laquelle était ménagé un trou rond de diamètre égal aux 2/3 de celui de la capsule.

Le résidu de calcium a été dissous à l'aide de 2 cm3 d'acide chlorhydrique à 5 p. 100 et cette solution évaporée à nouveau à l'étuve à 100°.

Nous dissolvons alors le chlorure de calcium obtenu dans 2,5 cm3 d'acide acétique à 5 p. 1.000. Avec une pipette de 2 cm3 nous aspirons et soufflons à une vingtaine de reprises de façon à bien dissoudre la totalité de ce sel.

On prélève alors 2,00 cm3 de la solution obtenue. Il suffit d'ajouter l'oxalate pour que la précipitation se

fasse bien, puisque dans ces conditions le pH voulu est obtenu de façon automatique.

Cette technique déjà adoptée par **Velluz et Deschaseaux** et par Cheymol présente de grands avantages. La calcination sur toile métallique perforée empêche les cendres (dans le cas où celles-ci renferment divers sels minéraux) de grimper le long des parois de la capsule.

La reprise par l'acide chlorhydrique à 5 p. 100 assure la solubilisation complète des cendres et réalise un premier lavage des parois de la capsule.

L'évaporation de l'acide chlorhydrique permet d'obtenir des cendres neutres que l'on dissout facilement ensuite avec une solution très faiblement acide (acide acétique à 5 p. 1.000) ce qui évite toute neutralisation ultérieure de l'ammoniaque et toute addition de colorant.

Enfin, il est tout à fait préférable de renoncer à recueillir la totalité des cendres de la capsule, ce qui nécessite plusieurs liquides de lavage, d'où augmentation de volume et diminution de la concentration en calcium. Nous trouvons beaucoup plus facile de recueillir une partie aliquote de la solution obtenue. L'expérience nous a montré que les erreurs dues aux mesures à la pipette et à l'augmentation de l'erreur relative par diminution de 1/5e de la prise d'essai, étaient inférieures aux pertes par insuffisance de lavage et aux erreurs par augmentation de la dilution.

Les résultats obtenus sont les suivants :

Dans plusieurs essais portant sur 2 cm3 d'acétate de calcium M/400 évaporés et calcinés comme il est dit ci-dessus, le calcium a été dosé par la méthode de **Cheymol.** Nous avons toujours retrouvé le calcium introduit avec une approximation de $\pm$ 3 p. 100.

D'autres dosages effectués en ajoutant à la solution de calcium une solution de sels minéraux analogue à une solution de cendres de sérum sanguin nous ont conduit à des résultats absolument identiques, la précision restant toujours de $\pm$ 3 p. 100.

Nous avons cherché à doser le calcium dans la solution acétique faible ainsi obtenue à l'aide de notre micro-méthode par retour,

Voici les constatations que nous avons pu faire :

1° — Lorsque l'on opère sur une solution pure d'acétate de calcium en l'absence d'autres sels minéraux, le dosage par notre micro-méthode est très facile, la précision est de ± 3 p. 100.

2° — Lorsque l'on opère sur une solution d'acétate de calcium additionnée de sels minéraux analogues à ceux rencontrés dans le sérum sanguin la précipitation du calcium se fait également bien au sein du soluté obtenu par dissolution du résidu de calcination.

3° — Mais par contre, si l'on prolonge pendant plus de 15 minutes la calcination du résidu d'évaporation de cette solution minérale analogue au sérum sanguin, on constate que les capsules de platine où se font les calcinations sont attaquées.

Le résultat de cette attaque est la production sur le fond de la capsule d'un léger dépôt brun noir constitué par un composé platinique.

Après reprise des cendres par l'acide chlorhydrique à 5 p. 100 le composé platinique est transformé en chlorure de platine donnant une solution très légèrement teintée en jaune.

Si l'on termine le dosage par centrifugation et lavage du précipité, le chlorure de platine est éliminé par les lavages.

Par contre, si l'on termine le dosage par notre micro-méthode, par retour, le chlorure de platine reste dans la solution. Lors du titrage iodométrique terminal le chlorure de platine est transformé en iodure de platine dont la teinte rose (l'iodure de platine à plus forte concentration présente une teinte rouge intense) gêne considérablement la lecture du virage de l'amidon.

Il résulte de tous ces faits que la calcination en capsule de platine est une excellente méthode lorsque l'on termine le dosage par isolement du précipité d'oxalate.

Elle peut très bien convenir à un dosage de calcium effectué par notre micro-méthode par retour à condition de pouvoir calciner rapidement les produits biologiques dans lesquels on cherche à doser le calcium.

4° L'ajustement du pH est obtenu automatiquement par addition de la solution des cendres dans l'acide acétique à 5 p. 1.000 de la moitié de son volume de solution d'oxalate N/50 additionnée de 1 p. 100 de soluté officinal d'ammoniaque.

Cette solution au contact de la solution acétique de cendres donne naissance à de l'acétate d'ammonium qui, nous l'avons vu, n'a aucune action empêchante sur la précipitation du calcium et possède un pouvoir tampon remarquable. En opérant ainsi nous obtenons toujours très régulièrement un milieu de pH 5,0 dans lequel la précipitation du calcium est optima.

Nous avons effectué ainsi de nombreux dosages sur des solutions titrées de calcium additionnées ou non de sels minéraux divers (sans dépasser 15 p. 1.000) soit en suivant la technique décrite par **Cheymol,** soit par notre micro-méthode par retour. Les erreurs oscillent habituellement en $\pm$ 1 et $\pm$ 2 p. 100. Elles n'ont jamais dépassé $\pm$ 3 p. 100.

Nous trouvons donc que ces deux méthodes nous conduisent à une précision égale.

Notre micro-méthode par retour est plus rapide mais ne peut être appliquée que si l'on peut, par une calcination modérée, éviter l'attaque du platine des capsules.

Ces méthodes se sont montrées de beaucoup plus précises que toutes les autres méthodes essayées. Nous ne pensons donc pas que l'on puisse actuellement, avec les méthodes proposées pour le dosage de quantités de calcium de l'ordre de 0,2 mg. en milieux complexes, obtenir une précision supérieure à $\pm$ 3 p. 100 dans tous les cas.

CHAPITRE XI

INFLUENCE DU REACTIF NITRO-PERCHLORIQUE

Nous avons voulu, en utilisant notre micro-méthode par retour, essayer de doser le calcium de solutions pures ou minéralisées après traitement de ces solutions par le mélange nitro-perchlorique conseillé par **Ch.-O. Guillaumin** (64).

Nous avons constaté que si l'on traitait la solution calcique par le mélange nitro-perchlorique jusqu'à évaporation du mélange et reprise par l'acide chlorhydrique suivie de la neutralisation de cet acide par l'ammoniaque, on n'obtenait aucune précipitation du calcium en employant des doses faibles de réactif oxalique.

Il suffit, en effet, d'une concentration de 1,5 p. 100 en chlorure d'ammonium dans le milieu où se fait la précipitation pour que celle-ci soit incomplète en 1 heure si l'on emploie seulement 4 fois la quantité d'oxalate théoriquement nécessaire.

Nous avons donc cherché :

1° — A éliminer totalement l'acide perchlorique par évaporation aussi complète que possible en léchant avec la flamme d'un bec Bunsen les parois et le col du micro Kjeldahl.

2° — A reprendre le résidu par l'acide chlorhydrique (2 cm3 d'HCl à 5 p. 100) et à évaporer celui-ci par ébullition jusqu'à siccité.

Le résidu est alors dissous dans 2 cm3 d'acide acétique à 5 p. 1.000.

3° — Nous ajoutons à cette solution 1 cm3 de solution d'oxalate N/50 (contenant 1 p. 100 d'ammoniaque pure).

4° — Nous filtrons ensuite sur Iéna et dosons l'oxalate restant dans une portion aliquote du filtrat.

Nous déduisons du chiffre de calcium trouvé celui du calcium apporté par les réactifs.

Les quelques dosages que nous avons faits dans ces conditions nous ont donné des résultats satisfaisants, les erreurs ne dépassant pas ± 2 p. 100.

Nous avons voulu doser ainsi le calcium en présence de sels minéraux en quantité analogue à celle rencontrée dans le sérum sanguin.

Nous avons toujours obtenu de fortes erreurs par défaut.

Lors de très nombreux essais nous avons cherché soit à neutraliser totalement l'acidité du résidu chlorhydrique par 1 goutte d'ammoniaque que l'on évapore ensuite, soit à tamponner la solution par addition d'acétate d'ammonium, soit à varier le temps de précipitation. Quelles que soient les conditions dans lesquelles nous avons opéré, nous n'avons jamais pu retrouver la totalité du calcium mis en réaction.

Dans la plupart de ces essais cependant le pli obtenu, vérifié sur les 0,5 cm3 de solution restant (après prélèvement des 2,5 cm3 pour le dosage de l'oxalate en excès) était bien compris entre 4,5 et 5,5.

Nous avons vérifié que les erreurs étaient dues à une précipitation insuffisante du calcium ; en effet, les filtrats en contenaient encore, ce qui était facilement mis en évidence par la précipitation de ce métal obtenu par addition d'un fort excès d'oxalate.

Les erreurs ont varié entre —6 p. 100 et —57 pour 100 et étaient le plus habituellement voisines de —15 à —20 p. 100.

La destruction nitro-perchlorique appliquée au dosage d'une solution renfermant des sels minéraux à la concentration où l'on rencontre ces sels dans le sérum sanguin ne peut donc être utilisée que si la précipitation du calcium est effectuée par un fort excès d'oxalate (plus de 15 fois).

CHAPITRE XII

INFLUENCE DE L'ACIDE TRICHLORACETIQUE ET DU NITRATE D'AMMONIUM

Dans le but d'activer la calcination des albumines nous avons essayé d'ajouter divers corps au sérum sanguin. L'addition de perhydrol ou de traces de sels de manganèse s'est révélée sans intérêt.

Nous avons remarqué par contre en opérant sur les filtrats trichloracétiques que la présence de l'acide trichloracétique rendait beaucoup plus rapide l'évaporation du sérum et facilitait la calcination des albumines. Nous avons vérifié que l'acide trichloracétique était volatil à 100° et brûlait sans résidu.

Le nitrate d'ammonium facilite également beaucoup la calcination du sérum, mais doit être employé en faible quantité (au maximum 10 p. 100) pour éviter les pertes par déflagration lors de la calcination de produits riches en matières organiques.

Le nitrate d'ammonium est entièrement décomposé par la chaleur à une température supérieure à 250°.

Nous avons cherché à vérifier que ces corps, ajoutés séparément ou simultanément à notre solution titrée d'acétate de Ca M/400, n'apportaient aucune perturbation au dosage du calcium effectué sur le résidu de calcination.

1° — *En capsules de platine.* — Pour cela nous avons introduit dans une capsule de platine 2,00 cm3 de solution d'acétate de Ca M/400 et des quantités variant entre 1,0 et 2,0 cm3 de solution d'acide trichloracétique à 20 p. 100. Le dosage par la méthode de **Cheymol** reste exact à 3 p. 100 près, après avoir déduit du résultat obtenu le calcium apporté par la solution d'acide trichloracétique et la solution d'acide chlorhydrique.

La présence de traces d'iodure de platine, lors du titrage iodométrique terminal, empêche ou rend très difficile le dosage du calcium par notre méthode par retour.

L'addition de nitrate d'ammonium lors de la calcination en capsules de platine n'est pas à recommander, car les capsules sont fortement attaquées par ce corps, le dépôt formé sur les capsules est difficilement dissous en totalité par l'acide chlorhydrique à à 5 p. 100, et retient parfois une légère fraction du calcium entraînant une erreur par défaut.

2° — *En capsules de porcelaine ou de quartz.* — Nous avons d'autre part opéré en capsules de porcelaine ou de quartz dans les conditions suivantes :

2,00 cm3 de notre solution d'acétate de Ca M/400 sont introduits dans une capsule de porcelaine ou de quartz avec 2,00 cm3 de solution d'acide trichloracétique à 20 p. 100 et 0,3 cm3 de solution de nitrate d'ammonium à 10 p. 100. On évapore et on calcine. Le résidu est repris par 2,0 cm3 de solution d'acide chlorhydrique à 5 p. 100 ; on évapore et on dissout les cendres par l'acide acétique à 5 p. 1.000.

Nous avons constaté que si la calcination est poussée jusqu'à la température du rouge sombre pendant 5 minutes nous obtenions une erreur par défaut pouvant atteindre 7 p. 100 et due au fait que les cendres s'incorporent partiellement à la capsule.

Par contre, si nous arrêtons le chauffage dès la disparition du charbon nous obtenons des erreurs par excès pouvant atteindre 4 à 5 p. 100 et dues au fait que le nitrate d'ammonium non décomposé oxyde en présence du sulfate de manganèse l'oxalate d'ammonium que nous cherchons à doser dans notre méthode par retour.

En opérant à température modérée (inférieure à celle du rouge sombre) et en maintenant les capsules y compris les parois à cette température pendant 3 à 4 minutes pour éliminer tout l'acide trichloracétique et le nitrate d'ammonium on obtient en opérant ainsi en capsules de porcelaine ou de quartz, des dosages exacts à $\pm$ 3 p. 100 près (après déduction du calcium apporté par les réactifs) que le dosage soit terminé par la méthode directe (lavage et dosage de l'oxalate de Ca) ou par notre méthode par retour (dosage de l'oxalate d'ammonium restant).

DEUXIEME PARTIE

ETUDE CRITIQUE DES PROCEDES DE DOSAGE DU CALCIUM EN BIOLOGIE

CHAPITRE PREMIER

MACRO-DOSAGES ET MICRO-DOSAGES DU CALCIUM EN BIOLOGIE

Ayant réussi à titrer avec une précision de ± 3 p. 100 le calcium dans des solutions analogues à des solutions de cendres de produits biologiques, nous avons cherché à doser le calcium dans divers produits biologiques en tenant compte des conditions que l'expérience nous avait montrées comme devant être respectées pour obtenir des résultats corrects.

Dans la plupart des cas le dosage de calcium en biologie humaine doit être effectué sur de très petites quantités de produit.

Il est moralement difficile de prélever, surtout chez des enfants, plus de 15 à 20 cm3 de sang qui vont nous donner de 6 à 8 cm3 de sérum. Le microdosage du calcium dans le sérum sanguin étant toujours très délicat il est absolument nécessaire de contrôler ses résultats en effectuant 2 ou de préférence 3 dosages. Il faut donc limiter la prise d'essai à 2 cm3 de sérum.

Lors d'analyses sur des tissus provenant de biop-

sies ou d'interventions chirurgicales les quantités de tissu que l'on a à sa disposition sont souvent faibles

Seules les urines et les fèces sont fournies au laboratoire en quantité abondante. Mais les différents dosages que nous avons pu faire par les macro-méthodes habituelles ne nous ont guère donné satisfaction.

En effet, nous avons constaté que dans tous les cas, pour qu'un dosage de calcium soit précis, il est nécessaire d'opérer en l'absence de matières organiques, c'est-à-dire après calcination du produit biologique.

La calcination d'une forte quantité de matière organique est une opération longue et difficile. C'est pourquoi, dans tous les cas, en biologie, nous effectuons nos dosages de calcium à l'aide de micro-méthodes.

Nous avons cherché parmi les nombreuses micro-méthodes proposées celle offrant le maximum de précision pour doser le calcium d'un produit biologique.

Ce sont ces recherches que nous allons exposer maintenant.

CHAPITRE II

MICRO-METHODES COLORIMETRIQUES

En principe nous ne nous adressons personnellement aux méthodes colorimétriques que lorsque nous n'avons aucune autre méthode à notre disposition. En effet :

1° — Les dosages colorimétriques de substances en solutions pures ne sont jamais très précis, les erreurs de lecture atteignant souvent 5 p. 100 quelles que soient les précautions que l'on prenne pour assurer l'égalité d'éclairement des 2 plages et même si l'on prend la précaution, pour compenser une inégalité d'éclairage possible, de faire plusieurs lectures, les tubes étant placés dans un sens et un nombre égal de lectures après avoir mis les tubes l'un à la place de l'autre dans le colorimètre.

2° — Mais très souvent la solution renfermant le corps à doser provenant du produit biologique présente une teinte légèrement différente de la solution témoin renfermant le corps en solution pure.

Des dosages faits sur des solutions de teintes légèrement différentes sont entachés d'erreurs beaucoup plus importantes, dépassant souvent 10 p. 100.

3° — Enfin, notre témoin devant servir au dosage il ne nous est pas possible de faire des témoins de contrôle nous permettant de vérifier la valeur du procédé qui ne peut être jugé que comparativement avec d'autres méthodes dont on soit sûr.

Les faibles variations du calcium en biologie humaine ne permettent pas l'emploi d'un méthode donnant des erreurs aussi importantes sur le seul dosage terminal aussi nous n'avons jamais cherché à doser le calcium par les micro-méthodes colorimétriques.

Voici les principales micro-méthodes proposées :

Précipitation à l'état de tungstate ; dosage colorimétrique de l'acide tungstique : Mousseron et Mlle Bouisson (122).

Précipitation à l'état de nickelonitrite ; formation de nitrosoantipirine dosée colorimétriquement : Mousseron (121-125).

Précipitation à l'état d'oxalate : Mariott et Howland (114) au sulfocyanate ; Laidlaw et Payne (101) puis Lung et Bushill (110) à l'alizarine.

Précipitation à l'état de phosphate de chaux ; formation de phosphomolybdate dont la réduction donne une coloration bleue : Briggs (25), Roe et Kahn (135-136), Kuttner et Cohen (97).

Précipitation de l'orthoxyquinoléine ; dosage colorimétrique de la fonction phénol : Yoshimatsu (171).

La plupart de ces techniques ont été essayées par Ch. O. Guillaumin (64) et ne lui ont pas donné satisfaction.

CHAPITRE III

MICROMETHODES NEPHELEMETRIQUES

Nous n'avons pas essayé personnellement la technique de **Lyman** (112) critiquée à l'unanimité, ni celle de **Rona et Kleinmann** (158) ni celle de **Wolfang Klaue** (169) qui paraissent meilleurs d'après **Ch. O. Guillaumin** (64). Citons encore les méthodes de **Amberg, Landbury** et **Sawyer** (5), de **Kriss** (90).

Nous avons par contre essayé en 1930 la méthode de **Vevnes, Bricq** et **Mlle Badoche** (159) mais sans pouvoir juger de la spécificité de la méthode, les seules erreurs de lectures photométriques nous donnaient des chiffres de calcium présentant des écarts pouvant atteindre 10 p. 100.

En 1938 nous avons repris nos recherches sur les dosages néphélémétriques en nous servant du comparateur à cellules photo-électriques (136) ; mais nous n'avons jamais pu obtenir des dosages précis à l'aide de cet appareil.

Les raisons en sont les suivantes :

1° Les courbes obtenues en portant en abscisses l'intensité du courant photo-électrique et en ordonnées la concentration en calcium ne sont pas des droites, mais des courbes semblant être des branches de parabole.

Nous avions pensé remédier à cet inconvénient en construisant une courbe à laquelle il eut suffi de se reporter pour en déduire la concentration en calcium. Malheureusement la tension anodique des cellules et celle de la plaque de la lampe triode sont fournies par des piles ; et cette tension baisse rapidement au début, puis lentement. Cette baisse reste suffisante cependant pour entraîner des erreurs importantes dans pareil procédé de dosage.

Nous avons d'ailleurs trouvé depuis une étude très documentée sur ce sujet, faite par **Canais** et **Hortala** (51).

Un autre travail de **Lesure, Thomas** et **Lavagne** (107) nous montre également que ces auteurs n'ont pas obtenu des résultats bien satisfaisants avec la néphélémétrie employée dans le dosage de solutions pures de calcium.

2° Mais si les résultats sont déjà très douteux en solutions pures, ils deviennent franchement mauvais lorsque l'on s'adresse à des solutions complexes identiques à celles que nous présentent les solutions de cendres de sérum sanguin.

Nous avons étudié en particulier l'action du chlorure de sodium.

Ce sel retarde nettement la précipitation du calcium à l'état d'oxalate de calcium.

Après une heure de précipitation dans un milieu contenant 8 p. 1.000 de Na Cl, le calcium est totalement précipité. Le dosage fait par oxalimétrie nous donne une erreur ne dépassant pas 3 p. 100. Mais le dosage néphélémétrique fait par comparaison avec une solution de Ca précipité en l'absence de Na Cl nous donne une erreur de —75 p. 100.

Le précipité obtenu en présence de NaCl s'est formé beaucoup plus lentement, il est beaucoup plus dense et donne une suspension beaucoup moins opaque tant à l'œil qu'à la cellule photo-électrique.

Nous avons observé au microscope les cristaux formés dans les deux cas.

En l'absence de Na Cl les cristaux obtenus se présentent sous forme d'étoiles ayant l'aspect de cristaux de neige. L'opacité d'une telle suspension est grande.

En présence de Na Cl on obtient des cristaux typiques d'oxalate de calcium en forme d'enveloppe de lettre. Ces cristaux sont relativement transparents. Leur suspension est très peu opaque.

Nous voyons donc là l'importance de la formation cristalline dans l'opacité des suspensions obtenues.

L'opacité variera suivant l'aspect, le nombre et la grosseur des cristaux.

Les aspects, nombre et grosseur des cristaux sont fonctions de nombreux facteurs parmi lesquels interviennent :

La concentration du milieu en calcium ;

La concentration en oxalate ;

La concentration en ions divers (Cl-Na-NH_4-P_2O_5, etc...) ;

La température ;

La rapidité de la précipitation, elle-même fonction de ces différents facteurs.

Nous voyons donc combien devient complexe l'application de la méthode néphélémétrique dans les milieux biologiques. Et, étant donné que même en solutions pures nous n'avons pu obtenir une précision satisfaisante, nous avons complètement abandonné les dosages néphélémétriques de calcium.

CHAPITRE IV

MICROMETHODES PONDERALES

La seule micro-méthode pondérale dont nous ayons eu connaissance est celle de **Rogozinski** (157) basée sur la précipitation du calcium à l'état de sulfate en milieu alcoolique faible et pesée du précipité desséché à 100° — 106° à l'état de SO^4Ca, H^2O.

Cette pesée devant être faite à la microbalance nous n'avons pu l'essayer faute de posséder cet instrument.

MICROMETHODES AU NICKELONITRITE

Nous n'avons pas essayé la méthode de **Mousseron** (121) basée sur la précipitation du calcium à l'état de nickelonitrite suivie du microdosage manganimétrique des groupements NO^2, ni celle proposée antérieurement par **Astruc et Mousseron** (8) basée sur la précipitation du calcium à l'état de nickelonitrite suivie du dosage acidimétrique des groupements NO^2 préalablement transformés en ammoniaque.

Elles ne semblent pas devoir offrir la précision que l'on peut obtenir avec les microdosages à l'oxalate effectués dans de bonnes conditions.

Nous avons seulement étudié les micro-méthodes basées sur la précipitation du calcium à l'état d'oxalate, méthodes adoptées par la plupart des auteurs.

CHAPITRE V

MICROMETHODES A L'OXALATE

A. — Terminaison du dosage par l'acide iodique ou par gazométrie.

Signalons la microméthode de **Baudoin** et **Lewin** (10) terminant le dosage du calcium par oxydation de l'oxalate par l'acide iodique à 120°. L'emploi de l'autoclave rend cette méthode assez peu pratique si l'on ne pratique pas les dosages en série. Nous n'avons pas expérimenté cette méthode.

Nous n'avons pas non plus expérimenté la technique gazométrique de **Van Slyke** et **Sendroy** (115) ; mais nous savons que, si les méthodes gazométriques donnent une précision suffisante pour doser l'urée ou la réserve alcaline, elles donnent des erreurs relatives trop importantes lorsqu'il s'agit de doser le calcium du sang dont les variations physiologiques sont très faibles.

B. — Terminaison du dosage par alcalimétrie

Dans cette technique le calcium, isolé par précipitation à l'état d'oxalate de calcium, est transformé par calcination au four électrique en chaux vive CaO que l'on dose à l'aide d'une solution acide titrée.

Cette méthode est préconisée par **Ch.-O. Guillaumin** (64).

Nous avons d'abord cherché à vérifier la précision du dosage alcalimétrique terminal en titrant une solution d'acide sulfurique N/100 par une solution de soude N/200. Nous avons employé comme indicateur la solution de rouge de méthyle à 1 p. 100 dans l'alcool à 50°.

La solution de soude est préparée à partir d'une

solution de soude au 1/2 exempte de carbonate et diluée à l'aide d'eau distillée décarbonatée.

Nous avons pu faire les constatations suivantes :

1° Le virage du rouge de méthyle est assez net même en solution N/200. Il est cependant moins sensible que le virage de l'amidon employé dans les dosages iodométriques aux mêmes dilutions.

2° Le virage du rouge de méthyle avec les solutions N/200 se produit alors que l'on a introduit une quantité de soude inférieure à la quantité nécessaire pour neutraliser l'acide mis en réaction.

Avec 2,00 cm3 de SO_4H_2 N/100 le virage se produit après addition de 3,94 cm3 de NaOH N/200 (erreur —1,5 p. 100).

Si l'on additionne cette même quantité d'acide de 10 cm3 d'eau distillée neutre, le virage se produit alors que l'on a employé seulement 2,72 cm3 de Na OH N/200. (Erreur = —7 p. 100).

Ces erreurs sont dues au fait que le rouge de méthyle vire entre le pH 5,4 et le pH 5,8 ou 6,0, alors que le pH de l'eau distillée décarbonatée que nous employons est d'environ 6,4. Il en résulte que le virage de l'indicateur est obtenu avant que la totalité de l'acide soit neutralisée, cette erreur étant d'autant plus importante que la dilution de l'acide en aura augmenté le degré d'ionisation.

En opérant comparativement avec un témoin de virage fait avec la même quantité de solution acide contenue dans un même volume total de liquide, on peut réduire de beaucoup ces erreurs.

Néanmoins, le dosage reste toujours beaucoup moins précis que celui obtenu par iodométrie sur des quantités de l'ordre de 2 cm3 d'une solution N/200.

A cette erreur sur le dosage terminal s'ajoute une erreur beaucoup plus importante due à la difficulté de dissoudre le précipité de Ca dans l'acide N/100.

C'est ce que nous ont montré les dosages effectués dans les conditions suivantes :

2,00 cm3 d'une solution titrée d'acétate de calcium M/400 sont introduits dans une capsule de platine et additionnés d'un excès d'oxalate d'ammonium.

La capsule est placée dans une étuve à 100° jusqu'à dessiccation complète.

On introduit ensuite cette capsule dans un four électrique à une température de 1.000° et on l'y laisse de 10 à 15 minutes.

Après refroidissement, on introduit dans la capsule 2,00 cm3 d'acide sulfurique N/100 et l'on effectue la dissolution de la chaux en chauffant légèrement la capsule au bain-marie.

On ajoute après refroidissement 1 goutte de solution de rouge de méthyle à 1 p. 100 et on titre l'acide restant à l'aide d'une solution de soude N/200.

Cette solution est titrée dans les mêmes conditions avec 2,00 cm3 d'acide sulfurique N/100.

Ce dosage ne nous a pas donné de bons résultats. Nous avons toujours eu des erreurs par défaut. Certains de ces dosages nous ayant donné des erreurs importantes nous avons abandonné cette méthode de terminaison de dosage que nous trouvons toujours beaucoup moins précise que la méthode manganimétrique avec terminaison par iodométrie.

Nous n'avons pas, dans ces conditions, essayé à partir d'un produit biologique la technique décrite par **Guillaumin**, ni celle proposée par **Hirth** (81).

La technique de Hirth est, en effet, très longue et minutieuse et expose à des pertes lors des transvasements, filtrations et lavages sur filtre en plus des erreurs sur le dosage terminal.

CHAPITRE VI

MICRODOSAGES A L'OXALATE
TERMINAISON PAR MANGANIMETRIE

C'est à ce mode de terminaison des dosages calciques adopté par **Velluz et Deschaseaux** [156] et par **Cheymol** [35] que vont nos préférences, puisque, comme nous l'avons montré dans la première partie de ce travail, il nous a toujours donné, en solutions pures, des erreurs inférieures à $\pm$ 3 p. 100.

De très nombreuses variantes à ce procédé ayant été proposées, il nous reste à faire une rapide critique des différentes opérations effectuées au cours des dosages de calcium dans un produit biologique.

1° Précipitation du calcium.

Cette précipitation est effectuée soit :

a) Directement dans le sérum sanguin ou le plasma.

b) Dans le liquide résultant de la désalbumination de l'échantillon par l'acide trichloracétique.

c) Dans le liquide résultant de la destruction nitro-perchlorique du produit biologique.

d) Dans la solution des cendres de ce produit.

a) *Méthodes par précipitation directe de l'oxalate calcique au sein du sérum.*

Une étude critique de ces méthodes a été faite par **Ch.-O. Guillaumin** [64] qui conclut à la nécessité de la minéralisation, ou au moins de la désalbumination du sérum. Presque tous les auteurs se sont ralliés à ce point de vue.

Les quelque dosages que nous avons faits personnellement par une de ces méthodes (**Kramer et Tisdall**) nous ont conduit à des résultats de 10 à 15

pour 100 trop élevés, dus à l'entraînement par le précipité d'oxalate de matières organiques réduisant le permanganate, fait mis en évidence par **Ch. O. Guillaumin** (67).

b) *Méthodes par précipitation de l'oxalate calcique dans le filtrat du sérum désalbuminé par l'acide trichloracétique.*

Une étude de ces méthodes a été faite par **J. Cheymol** (35). Les causes d'erreurs qu'il signale sont les suivantes :

1° Présence de traces de calcium dans les filtres même sans cendres.

2° Nécessité de l'emploi de colorants pour le réajustement du pH, ces colorants se fixant sur le précipité et entraînant des erreurs par excès malgré les lavages.

Un autre reproche que nous adressons à cette méthode est le suivant :

La neutralisation de l'acide trichloracétique est effectuée par l'ammoniaque. Il faut évidemment employer des quantités relativement importantes d'ammoniaque ; or, comme nous l'avons montré plus haut, la présence des sels ammoniacaux retarde considérablement et empêche même totalement dans certains cas la précipitation du calcium. Pour que celle-ci puisse avoir lieu il faut absolument recourir à un très gros excès d'oxalate. C'est ce qui a conduit les différents auteurs préconisant ces méthodes à utiliser de 1 cm3 à 1,5 cm3 de solution saturée d'oxalate d'ammonium.

Dans la méthode de **Guillaumin** (65) par défécation trichloracétique, on utilise ainsi de 1 cm3 à 1,5 cm3 de solution d'oxalate d'ammonium à saturation pour précipiter le calcium de 10 cm3 de filtrat correspondant à 2,5 cm3 de sérum sanguin. Dans ces conditions l'excès d'oxalate mis en réaction par rapport à la quantité combinée au calcium est de 52 fois (pour 1 cm3) et de 78 fois (pour 1,5 cm3).

Il est évidemment très difficile par la suite de se débarrasser de cet énorme excès d'oxalate malgré les lavages ; et de plus l'oxalate de Ca étant légèrement soluble dans l'eau, on ne peut multiplier les lavages.

De l'ensemble des dosages que nous avons effectués par cette méthode nous avons conclu qu'elle conduisait à des résultats assez inconstants, avec des erreurs généralement par excès dépassant souvent 10 p. 100.

c) *Méthodes utilisant la destruction nitro-perchlorique.*

Cette méthode préconisée par **Ch. O. Guillaumin** a conduit cet auteur à de bons résultats à condition de corriger le chiffre trouvé en en déduisant le calcium introduit par le mélange nitro-perchlorique.

Nous adressons à cette méthode le même reproche qu'à celles utilisant la défécation trichloracétique. L'emploi de grosses quantités d'ammoniaque pour assurer la neutralisation, exige l'emploi d'un gros excès d'oxalate d'ammonium.

Si l'on termine le dosage par alcalimétrie, ceci ne présente aucun inconvénient.

Mais il n'en est pas de même si l'on termine par manganimétrie, car il devient très difficile de se débarrasser de tout l'oxalate d'ammonium en excès.

d) *Méthodes utilisant la calcination en capsules de platine.*

C'est à la calcination des produits biologiques que nous donnons la préférence.

Nous l'utilisons habituellement depuis plusieurs années, et, à condition d'être faite avec quelques précautions, elle nous a toujours conduit à d'excellents résultats.

Le seul inconvénient de cette technique est que la calcination est souvent longue et difficile.

Il se forme le plus souvent un bloc de charbon qui reste éloigné du fond de la capsule et se calcine très mal. On a souvent intérêt à laisser refroidir la capsule et faire couler sur le résidu de charbon quelques gouttes d'eau distillée qui le dilacèrent. On évapore à siccité à l'étuve à 100° et on continue la calcination.

Il est parfois nécessaire de répéter deux ou trois fois cette reprise par l'eau distillée, mais ces opérations sont longues.

L'addition au sérum de son volume de solution d'acide trichloracétique à 20 p. 100 facilite l'évapo-

ration et la calcination du sérum ; mais il faudra tenir compte du Ca apporté par l'acide trichloracétique.

L'addition de nitrate d'ammonium facilite beaucoup la calcination, mais a l'inconvénient d'attaquer le platine des capsules.

c) *Calcination du déféquat trichloracétique additionné de nitrate d'ammonium en capsules de porcelaine*

Cette technique présente l'avantage d'utiliser des capsules de porcelaine au lieu de celles de platine et est beaucoup plus rapide que la précédente, car la quantité de substances organiques à calciner est faible et on peut accélérer fortement la calcination à l'aide du nitrate d'ammonium qui est sans action sur les capsules de porcelaine.

Les capsules de quartz nous ont donné exactement les mêmes résultats que celles de porcelaine.

Le sérum est déféqué par un volume égal de solution d'acide trichloracétique à 20 p. 100. On centrifuge, et un volume exactement mesuré du déféquat est introduit dans une capsule de porcelaine. On y ajoute un dixième de son volume de solution de nitrate d'ammonium à 10 p. 100. On évapore et on calcine à basse température (inférieure à celle du rouge sombre).

Dans ces conditions les cendres ne s'incorporent pas à la capsule et se dissolvent en totalité dans l'acide chlorhydrique à 5 p. 100. On évapore à siccité et on dissout les cendres par l'acide acétique à 5 p. 1.000.

En employant ce mode opératoire nous n'avons pas à redouter les inconvénients signalés dans la méthode de précipitation du calcium dans le filtrat trichloracétique puisque nous remplaçons la filtration par la centrifugation et que la calcination du déféquat trichloracétique élimine toutes les matières organiques et la totalité de l'acide trichloracétique introduit.

La solution des cendres dans l'acide acétique à 5 p. 1.000 additionnée de solution ammoniacale d'oxalate N/50 donne un milieu de pH 5,0 sans addition de colorant ni neutralisation.

Le seul inconvénient de cette technique est que les réactifs utilisés — acide trichloracétique, nitrate d'ammonium et acide chlorydrique contiennent géné-

ralement de petites quantités de calcium dont il faudra tenir compte dans le calcul du résultat.

2° Isolement du précipité.

Il est effectué par filtration, soit par centrifugation.

A. — *Par filtration.*

Baudoin et Lewin (10) isolent leur précipité par filtration sur une plaque en verre poreux d'Iéna.

Bigwood et **Roost** (17) opèrent sur filtre d'amiante.

Dès 1930, nous avions essayé la filtration et le lavage du précipité sur plaque de verre poreux d'Iéna, mais nous avons abandonné ce procédé pour deux raisons :

1° Il faut transvaser sur le filtre le liquide et la totalité du précipité en employant un minimum d'eau; dans ces conditions, il est presque impossible de ne pas avoir une partie du précipité perdue, car restant le long des parois du tube où a été effectuée la précipitation.

2° Le précipité étant filtré à sec est aggloméré par la pression contre la plaque poreuse ; les liquides de lavage ne filtrent plus que très difficilement, et surtout il devient presque impossible de dissoudre la totalité du précipité avec la solution acide, même chaude, mais employée obligatoirement en quantité modérée.

Cette technique nous conduisait habituellement par suite à des erreurs par défaut.

B. — *Par centrifugation.*

C'est la méthode la plus habituellement employée et elle conduit à de très bons résultats.

3° Lavage du précipité.

Le lavage à l'aide d'une solution oxalique donne toutes garanties, mais il nécessite la terminaison du dosage par alcalimétrie.

Le lavage à l'eau employée en assez grande quantité entraîne des erreurs par défaut par suite de la

solubilité non négligeable de l'oxalate de calcium dans l'eau.

Le lavage avec de petites quantités d'eau entraîne des erreurs par excès car il est impossible, avec un ou deux lavages avec 5 cm3 d'eau, d'éliminer complètement le très gros excès d'oxalate introduit dans la plupart des techniques étudiées. Ces deux erreurs en sens contraire se compensent plus ou moins ; mais il est difficile d'obtenir une précision rigoureuse dans ces conditions.

Le lavage avec la solution alcool-éther-eau, puis alcool-éther et enfin à l'éther pur préconisé par **Vel-luz et Deschaseaux** nous a donné de bons résultats.

Les cinq lavages utilisés par ces auteurs utilisent 20 cm3 de liquide qui sont très suffisants pour éliminer l'excès assez léger d'oxalate employé.

Cheymol réduit à quatre le nombre de ces lavages.

Nous avons constaté que lorsque l'excès d'oxalate mis en réaction est faible (moins de 6 fois) l'on peut réduire encore ces lavages.

Un lavage à l'eau-alcool-éther, un second à l'alcool-éther et un troisième à l'éther se sont montrés tout à fait suffisants pour éliminer la totalité de l'oxalate d'ammonium non combiné au calcium.

Les traces d'éther sont totalement éliminées par un séjour d'une minute à l'étuve à 100°.

CHAPITRE VII

TECHNIQUE DE DOSAGE DU CALCIUM DANS LE SERUM SANGUIN

I. — Méthode de Velluz et Deschaseaux modifiée par Cheymol et par nous-même.

Ayant ainsi analysé tous les temps du dosage du calcium pour trouver les conditions optima propres à chacun d'eux, nous avons constaté que la technique la plus précise et la plus spécifique pour le dosage du calcium dans le sérum sanguin, était celle de **Velluz** et **Deschaseaux** modifiée par **Cheymol** et à laquelle nous avons apporté quelques modifications.

C'est cette technique que nous avons utilisée pour les dosages effectués sur les sérums provenant de malades atteints d'affections osseuses.

Les modifications que nous avons apportées à la technique originale sont les suivantes :

1° Les évaporations sont faites à l'étuve à 100° dont nous trouvons l'emploi plus pratique que celui du bain-marie garni d'eau distillée.

2° Nous facilitons l'évaporation et la calcination du sérum en y ajoutant 10 p. 100 d'acide trichloracétique.

3° Nous effectuons la reprise des cendres par 2,5 cm3 d'acide acétique à 5 p. 1.000 (au lieu de 5 cm3) pour éviter la diminution de la concentration en calcium qui deviendrait insuffisante (inférieure à 3 p. 100.000) dans le cas d'une prise d'essai contenant moins de 80 mg. de calcium pour 1.000 g.

4° Nous faisons un seul lavage avec le mélange : eau-éther-alcool.

5° Nous ajoutons deux gouttes de solution de sul-

fate de manganèse à 1 p. 100 comme catalyseur et réduisons le temps d'oxydation à 3 minutes.

6° Nous employons 1,00 cm3 de MnO4K N/50 de façon à réduire le volume total du liquide, ce qui rend le virage plus net ; et employons 0,5 cm3 de solution de KI à 10 p. 100, quantité minima nécessaire pour assurer la libération totale de l'iode.

1. — **Prélèvement.**

Le sang est recueilli le matin chez le malade à jeun par ponction veineuse. On met le garrot le temps juste nécessaire pour faire pénétrer l'aiguille dans la veine et on le retire aussitôt pour réduire le plus possible la stase sanguine.

On aspire 20 cm3 environ de sang à l'aide d'une seringue qui aura été stérilisée après lavage à l'eau distillée et séchage.

On verse le sang dans un tube à centrifuger. On le laisse se coaguler en prenant soin de détacher le caillot s'il adhère aux parois. On centrifuge et on transvase le sérum en vidant doucement pour ne pas entraîner les hématies.

On prélève 2.00 cm3 de sérum que l'on introduit dans une capsule de platine (de 20 ou 30 cm3).

On fera si possible trois prélèvements identiques si l'on dispose d'un volume de sérum suffisant et des trois capsules nécessaires.

On ajoute dans chaque capsule 2,00 cm3 de solution d'acide trichloracétique à 20 p. 100.

On porte les capsules à l'étuve à 100° pendant deux à trois heures.

2. — **Calcination.**

On place la capsule sur un support recouvert d'une toile métallique garnie d'amiante dans laquelle on a découpé un trou circulaire de diamètre correspondant au fond de la capsule.

On chauffe d'abord très doucement avec la veilleuse de Bunsen. Le sérum se boursoufle et noircit. On enflamme les fumées qui se dégagent.

On augmente légèrement la flamme jusque disparition presque complète du charbon et enfin on

pousse fortement la calcination jusqu'à obtention de cendres blanches.

Pour cela, la capsule prise avec une pince en nickel est successivement penchée légèrement de divers côtés pour calciner toutes les particules de charbon, en faisant très attention que les cendres fondues qui grimpent le long des parois n'atteignent pas les bords de la capsule.

3. — **Reprise par l'eau chlorhydrique.**

On laisse refroidir la capsule et on y laisse couler 2 cm3 de solution d'acide chlorydrique à 5 p. 100 (en volume).

La pointe de la pipette sera placée contre le bord interne de la capsule et on lui fera suivre le tour de ce bord de façon à dissoudre et entraîner vers le fond les cendres qui sont le long des parois.

On évapore à sec à l'étuve à 100°.

4. — **Précipitation du calcium.**

Après dessiccation on introduit 2,50 cm3 d'acide acétique à 5 p. 1.000.

On aspire avec une pipette de 2 cm3 le liquide et on le chasse à plusieurs reprises pour bien dissoudre les cendres et on fait ainsi un dernier lavage des parois.

La solution étant bien homogène on en prélève très exactement 2,00 cm3 que l'on introduit dans un tube à centrifuger conique.

Il faut employer des tubes à centrifuger d'une contenance de 20 cm3 environ ayant une extrémité inférieure pas trop effilée (5 à 7 mm. de diamètre interne à la pointe du tube).

On ajoute à la solution calcique 0,5 cm3 de solution d'oxalate d'ammonium N/10 et on mélange en frappant légèrement la pointe du tube contre l'ongle du pouce.

On laisse les tubes au repos pendant une heure après les avoir placés dans un verre à précipitation recouvert d'une plaque de verre.

5. — **Lavage du précipité.**

On centrifuge les tubes à 3.500 tours pendant dix minutes (ou 5 minutes à 5.000 tours) et on vide le liquide.

Les tubes sont mis à égoutter sur plusieurs doubles de papier filtre.

Après quelques minutes on essuie le bord des tubes avec un linge de fil très propre. On les redresse et on lave le précipité avec 4 cm3 du mélange :

Alcool à 95°	18 cm3
Ether sulfurique . .	16 cm3
Eau distillée	15 cm3

Avec une pipette effilée on fait couler le liquide d'abord le long de la paroi et en soufflant on projette le reste sur le précipité pour le mettre en suspension.

On centrifuge à nouveau dix minutes à 3.500 tours.

On fait un nouveau lavage identique avec le mélange à volumes égaux d'éther et d'alcool à 95° et un dernier lavage à l'éther pur.

Pour ces deux derniers lavages le temps de centrifugation peut être réduit à 5 minutes à 3.500 tours.

On porte les tubes 2 ou 3 minutes à l'étuve à 100° pour chasser toute trace d'éther et on les laisse refroidir.

6. — **Dosage.**

On verse cinq gouttes de solution d'acide sulfurique à 5 p. 100 en volume dans chaque tube.

A l'aide d'un petit agitateur (que l'on laissera dans le tube jusqu'à la fin du dosage) on met le précipité en suspension et on porte les tubes à l'étuve à 100° pendant quelques minutes.

On incline le tube en le tournant pour dissoudre, à l'aide de la solution acide chaude, les traces d'oxalate adhérentes aux parois.

On laisse refroidir les tubes en les plongeant aux deux tiers dans l'eau froide,

On ajoute alors 1,00 cm3 d'une solution de permanganate de potasse N/50 et deux gouttes d'une solution de sulfate de manganèse à 1 p. 100. On agite et on laisse en contact pendant trois minutes.

On ajoute alors 0,5 cm3 d'une solution d'iodure de potassium à 10 p. 100. On agite et on laisse en repos 30 secondes pour permettre la libération complète de l'iode.

On titre l'iode à l'aide d'une solution d'hyposulfite N/200 versée à l'aide d'une micro-burette (soit n' cm3) en ajoutant vers la fin du virage 10 gouttes de solution d'amidon.

On fait un témoin dans les mêmes conditions en versant dans un tube 5 gouttes d'acide sulfurique à 5 p. 100, 1,00 cm3 de la solution de permanganate N/50, 2 gouttes de sulfate de manganèse à 1 p. 100 et 0,5 cm3 de solution d'iodure de potassium à 10 pour 100.

On titre par l'hyposulfite N/200 en présence de 10 gouttes de la solution d'amidon (soit n cm3).

Le poids de calcium contenu dans un litre de sang est de :

$$\frac{(n-n') \times 0{,}100 \times 5}{4} \times \frac{1000}{2} = (n-n') \times 62{,}5$$

exprimé en milligrammes de calcium par litre.

Il y aura lieu de déduire du chiffre obtenu le calcium qui aurait pu être apporté par les réactifs (solution d'acide trichloracétique, solution d'acide chlorhydrique).

Dosages de vérification.

Ayant vérifié le dosage du calcium en solution pure aux divers temps de la réaction, il nous restait à vérifier si les cendres du serum n'apportaient pas de perturbations pouvant nuire à la précision de ce dosage.

Nous avons d'abord cherché si l'alcalinité des cendres n'augmentait pas le pH de façon suffisante pour retarder la précipitation du calcium. Or, nous avons constaté que les cendres dissoutes dans l'acide acétique dilué et additionné d'oxalate en quantité in-

diquée présentaient bien le pH optimum pour la précipitation du calcium.

Nous avons vérifié ensuite que la solution acétique des cendres du sang ne présentait aucune action réductrice sur la solution de permanganate, et n'amenait aucune perturbation dans le dosage iodométrique du permanganate employé.

Nous avons vérifié que les divers ions Na. P. Mg. à la concentration où on les rencontrait dans le sérum sanguin, ne troublaient pas le dosage du calcium.

Nous avons également vérifié l'absence de traces de fer dans un sérum bien centrifugé.

Il nous semble donc que le dosage du calcium dans les cendres du sérum, tel que nous le pratiquons, soit rigoureusement spécifique, et qu'il conserve sensiblement la même précision que le dosage de quantités égales de calcium en solution pure.

Des essais faits en ajoutant des quantités connues de calcium à un sérum donné nous ont montré que nous retrouvions bien la totalité du calcium introduit.

Voici les résultats d'un de ces essais :

Sérum sanguin	2,00 cm3	2,00 cm3	2,00 cm3
Solution de calcium M/400	0	0,40 cm3	0,80 cm3
Calcium trouvé	89 mg	108 mg	130 mg
Chiffres théoriques		109 mg	129 mg
Erreur		—0,9 %	+ 0,7 %

Les dosages faits sur trois échantillons de 2 cm3 d'un même sérum nous donnent des chiffres concordants à + 1,5 p. 100 près :

Sang 1 —	1er dosage	101	Sang 2 —	1er dosage	103,5
	2e —	104		2e —	102
	3e —	104		3e —	103,5
Sang 3 —	1er dosage	79,5	Sang 4 —	1er dosage	89
	2e —	76,5		2e —	90
	3e —	78		3e —	88

II. — METHODE PERSONNELLE PAR RETOUR

Nous avons vu que notre micro-méthode par retour, précise lorsqu'elle est faite sur des solutions minérales, est difficile à utiliser sur les produits riches en matières organiques.

Lorsque l'on calcine le sérum sanguin en capsules de platine, l'attaque des capsules et la présence consécutive d'iodure de platine lors du dosage iodométrique terminal rend souvent ce virage peu lisible.

La calcination du sérum total en capsules de porcelaine est longue et oblige à porter les capsules au rouge et souvent les cendres s'incorporant partiellement à la porcelaine nous observons des erreurs par défaut.

Par contre, la calcination du déféquat trichloracétique en présence de nitrate d'ammonium est facile et rapide et nous conduit à de bons résultats.

La technique que nous avons finalement adoptée est la suivante :

Le prélèvement et la séparation du sérum sont effectués comme ci-dessous (page 77). Le sérum est déféqué par le même volume exactement mesuré de solution d'acide trichloracétique à 20 p. 100. On centrifuge et on prélève 4,00 cm3 de déféquat que l'on introduit dans une petite capsule en porcelaine de 15 à 20 cm3. On y ajoute 0,3 cm3 de solution de nitrate d'ammonium à 10 p. 100 et on évapore à l'étuve à 100°.

On calcine le résidu. Cette calcination se fait très rapidement sans que la température atteigne celle du rouge sombre. On chauffe encore pendant 2 à 3 minutes à une température voisine de 500° le fond et les parois de la capsule pour éliminer toute trace d'acide trichloracétique et de nitrate d'ammonium.

On reprend les cendres par 2,0 cm3 de solution d'acide chlorhydrique à 5 p. 100 en lavant les parois de la capsule et on évapore à siccité à l'étuve à 100°

Les cendres sont alors dissoutes par 2,50 cm3 de solution d'acide acétique à 5 p. 1000. On les dissout en aspirant et soufflant le liquide à une vingtaine de reprises et on prélève 2,00 cm3 de cette solution

de cendres que l'on introduit dans un tube à centrifuger.

On y ajoute 1,00 cm3 de solution ammoniacale N/50 d'oxalate d'ammonium. On laisse la précipitation s'effectuer pendant une heure.

On centrifuge 10 minutes à 3.500 tours et on recueille le liquide en vidant simplement celui-ci du tube à centrifuger dans un petit tube à hémolyse.

On conserve le précipité d'oxalate de calcium pour en doser l'ion oxalique si on le désire suivant la technique précédemment décrite.

On prélève 2,50 cm3 de ce liquide de centrifugation et on les introduit dans une petite fiole d'Erlenmeyer de 50 cm3 environ bouchant à l'émeri. On y ajoute 0,2 cm3 de solution d'acide sulfurique à 20 p. 100, puis 1,00 cm3 de solution de permanganate N/50 et deux gouttes de solution de sulfate de manganèse à 1 p. 100.

On mélange et on laisse en contact 3 minutes (porter ce temps à 4 ou 5 minutes si la température du laboratoire est inférieure à 15°).

On ajoute alors 0,5 cm3 de solution d'iodure de potassium à 10 p. 100, et après 30 secondes on titre l'iode libéré à l'aide d'une solution d'hyposulfite de sodium N/200 en ajoutant vers la fin du virage 10 gouttes de solution d'empois d'amidon (soit n cm3).

On fait un témoin dans les mêmes conditions avec 2,00 cm3 de solution d'acide acétique à 5 p. 1.000 et 1,00 cm3 de solution d'oxalate N/50.

2,50 cm3 du mélange sont traités de la même façon par les mêmes quantités de solutions d'acide sulfurique, de permanganate N/50, de sulfate de manganèse et d'iodure de potassium, ces réactifs étant mesurés avec les mêmes pipettes. On titre l'iode libéré avec la solution d'hyposulfite N/200, soit n' cm3.

La quantité de calcium par litre de sérum est de

$$\frac{(n\text{-}n') \times 0{,}1 \times 5 \times 6 \times 500}{4 \quad 5} = (n\text{-}n') \times 75 \text{ mg.}$$

Corrections.

1° *Calcium apporté par les réactifs.*

Le titrage du calcium dans les réactifs est effectué chaque fois que l'on remplacera un des réactifs de la façon suivante :

On évapore dans une capsule de porcelaine 20,0 cm3 de solution d'acide trichloracétique à 20 p. 100, et 3,0 cm3 de solution de nitrate d'ammonium à 10 p. 100. On calcine. On reprend les cendres par 20,0 cm3 de solution d'acide chlorhydrique à 5 p. 100. On évapore. On dissout les cendres par 2,50 cm3 de solution d'acide acétique à 5 p. 1.000 dont on prélève 2,00 cm3 que l'on traitera comme les cendres d'un sérum sanguin. Le chiffre de calcium obtenu calculé par litre comme ci-dessus et divisé par 10 nous donnera la correction à apporter aux résultats obtenus sur le sérum sanguin.

2° *Différence de teneur en calcium entre le sérum et le déféquat trichloracétique.*

Si nous comparons les résultats obtenus en dosant le calcium d'une part sur 2,00 cm3 de sérum calciné en capsule de platine, et d'autre part sur 4,00 cm3 de déféquat trichloracétique au demi du même sérum pour voir si les quantités de calcium sont identiques, nous obtenons les résultats suivants :

	sur le sérum	sur le déféquat trichloracétique	écart
Sang N° 1 sujet normal	95	99,5	+4.5 p. 100
Sang N° 2 —	94	98	+4.0 p. 100
Sang N° 3 —	88	93	+5.0 p. 100
Sang N° 4 néphrite (urée = 0g.91)	66	70	+6.7 p. 100
Sang N° 5 néphrite (urée = 1 g.07)	80	83	+3.8 p. 100

Nous constatons ainsi que le déféquat trichloracétique contient en moyenne 4,5 p. 100 de calcium de plus que le sérum sanguin correspondant. Ce fait est dû à ce que le précipité d'albumine du sérum sanguin déféqué par l'acide trichloracétique ne contient pratiquement pas de calcium, celui-ci passant en totalité dans le liquide ; ce précipité représente environ de 4,0 à 4,5 p. 100 du volume total. Nous avons d'ailleurs vérifié que le culot de centrifugation délayé dans 40 %

du liquide de centrifugation contient environ 12 p. 100 de calcium de moins que le sérum correspondant, la diminution de la teneur en calcium correspondant bien à l'augmentation de la concentration en albumine de la prise d'essai.

Il en résulte donc que le dosage du calcium effectué sur le déféquat trichloracétique nous donne le chiffre de la séro calcémie vraie à condition de diminuer de 4,5 p. 100 les chiffres obtenus dans les dosages.

Précisions de la méthode.

Les différents dosages effectués sur un même déféquat trichloracétique nous donnent des résultats concordant le plus souvent à $\pm$ 1 p. 100 près. Les écarts maxima observés ne dépassant pas $\pm$ 3 p. 100.

CHAPITRE VIII

DOSAGES BIOLOGIQUES DU CALCIUM

A. — Dosage du calcium dans les urines.

Le dosage du calcium dans les urines peut être effectué par la technique classique préconisée par **Grimbert** consistant à précipiter le calcium de 200 cm3 d'urine par l'oxalate et à peser le précipité après filtration, lavages et calcination à l'état de chaux.

Cependant cette méthode est longue, et dans les cas d'urines albumineuses ou purulentes elle nécessite la double précipitation préconisée par **Ch. O. Guillaumin.**

Nous préférons de beaucoup employer pour l'urine les techniques que nous avons décrites pour le sang, soit en opérant par macrodosage volumétrique sur 10 cm3 d'urine, soit par microdosage sur 2 cm3.

La prise d'essai est évaporée en capsule de platine ou en capsule de porcelaine ou de quartz (après avoir ajouté à l'urine 1 p. 100 de nitrate d'ammonium) et calcinée.

On ajoute ensuite un excès connu d'oxalate d'ammoniaque, on centrifuge et, si nécessaire, on filtre le liquide sur Iéna G.4.

On termine le dosage par iodométrie comparativement avec le dosage témoin de l'oxalate employé.

En macrodosage le dosage est exact à 1 p. 100 près et en microdosage à 2 à 3 p. 100 près.

B. — Dosage de calcium dans les fèces.

Nous opérons en macrodosage sur un échantillon d'une dizaine de grammes prélevé en plusieurs endroits, pesé dans une capsule de platine, puis desséché et incinéré.

En microdosage nous opérons sur 1 à 2 g. de selles préalablement bien mélangées au mortier, exactement pesés en capsule de platine, desséchés et incinérés.

Le dosage est ensuite effectué par précipitation oxalique et terminé par volumétrie en dosant soit l'excès d'oxalate introduit en quantité connue, soit l'oxalate de calcium précipité.

Nous préférons l'incinération à la destruction nitro-perchlorique de **Guillaumin** et à la destruction permanganique préconisée par **Goiffon.**

C. — **Dosage du calcium dans les tissus.**

Les quantités de tissus que nous avons à notre disposition étant généralement limitées, nous recourons habituellement à notre micro-méthode.

Un prélèvement variable suivant la richesse présumée du tissu en calcium est pesé exactement, desséché et incinéré en capsule de platine.

Le dosage est terminé comme dans le cas du dosage dans le sang.

CHAPITRE IX

SERO-CALCEMIE NORMALE ET VARIATIONS PHYSIOLOGIQUES DE LA SERO-CALCEMIE

Les variations physiologiques de la séro-calcémie sont très faibles.

Chez l'homme, la séro-calcémie, dosée suivant la technique ci-dessus décrite, nous conduit à considérer comme normales les séro-calcémies comprises entre 95 et 100 mg. de calcium par litre de sérum.

Ces chiffres concordent avec ceux donnés par les auteurs ayant employé des techniques suffisamment précises.

Hirth (81) indique comme normales les calcémies comprises entre 95 et 98 mg. Nous avons vu que cette méthode donne des chiffres parfois un peu bas par suite de pertes légères au cours de la calcination du précipité.

Ch. O. Guillaumin (64) indique comme normaux des chiffres un peu plus élevés : 95 à 105 mg. Nous avons vu que sa technique donne, en effet, des chiffres un peu élevés par l'emploi d'un assez fort excès d'oxalate qu'il est difficile d'éliminer totalement ensuite par les lavages.

Les chiffres que nous avons trouvés, situés entre les deux, nous semblent correspondre à la séro-calcémie réelle, étant donné la spécificité de la méthode employée et sa précision.

Les dosages effectués chez sept sujets normaux nous ont donné les chiffres suivants :

Sujet 1	100		mg
» 2	95	— 100	mg
» 3	100		mg
» 4	94	— 95	mg
» 5	91	— 98	mg
» 6	94		mg
» 7	96	— 97	mg

soit en moyenne : 97 mg.

Cependant nous avons parfois trouvé, chez des sujets apparemment normaux, des chiffres compris entre 90 et 95 ou entre 100 et 105 mg.

Nous ne considérons donc comme pathologiques que les chiffres inférieurs à 90 mg ou ceux supérieurs à 105 mg.

Nous n'avons pas étudié les variations de la séro-calcémie sous diverses influences physiologiques. Cette étude ayant déjà été faite par divers auteurs. Nous rappelerons simplement leurs conclusions.

Nous trouvons dans le rapport de **Mathieu-Pierre Weil** et **Guillaumin** (66) au Congrès de Liége, en 1930, une mise au point et une bibliographie de cette question. Ce travail est repris et mis à jour par **Guillaumin** dans sa conférence de 1932 (64).

Les faits suivants semblent admis. Le sang veineux est plus riche en calcium que le sang artériel.

L'alimentation ne semble jouer qu'un rôle très minime sur le taux de la séro-calcémie.

L'âge et le sexe sont sans influence notable sur la calcémie.

Les variations saisonnières ne semblent pas exister chez l'homme.

La grossesse et l'allaitement au contraire semblent avoir une influence sur la calcémie ; de nombreux travaux assez contradictoires ont été effectués à ce sujet. Mais **Vignes et Guillaumin** ne trouvent que des valeurs normales, ou des valeurs abaissées qu'ils observent surtout dans les derniers mois de la grossesse.

Depuis 1932, date de publication de cette mise au point de la question, nous avons noté divers travaux sur ce sujet.

Cheymol (35) effectuant avec précision de très nombreux dosages sur les sérums de chiens, trouve également que le repas n'a pas d'influence marquée sur la calcémie. Il note comme **Binet et Blanchetierre** l'ont trouvé chez l'homme une teneur en calcium du sang veineux plus élevée que celle du sang artériel.

Les variations au cours de la journée sont faibles, ne dépassant pas 10 p. 100

L'asphyxie augmente la calcémie.

Une ventilation pulmonaire artificiellement augmentée abaisse la calcémie d'environ 5 p. 100.

Aburel et Ornstein (172) étudient le métabolisme du calcium pendant la *grossesse* ; ils constatent simplement une légère baisse relative de la séro-calcémie pendant les derniers mois, mais non une hypocalcémie.

L'étude de la calcémie ne fournit aucune appréciation du degré de décalcification de l'organisme maternel. Les auteurs ne notent pas de rapport net entre le taux de la séro-calcémie du sang maternel et le poids de l'enfant à la naissance.

De même le taux de la séro-calcémie est sans rapport marqué avec la durée du travail, une calcémie basse semblant cependant favoriser l'évolution du travail.

Encore basse une dizaine de jours après l'accouchement, la calcémie remonte ensuite progressivement à la normale. **Aburel et Ornstein** notent que la calcémie élevée de la mère pendant la lactation est en faveur d'une croissance plus rapide du nourrisson.

La séro-calcémie du fœtus est toujours supérieure de 6 à 12 mg. à celle de la mère.

Cette excellente mise au point de la question est appuyée sur des dosages effectués par la méthode de **Grigaut et Ornstein** qui est satisfaisante et est suivie d'une bibliographie très complète.

Au sujet des *influences météorologiques* nous notons un travail de **Aimes et Cayla** (174) qui trouvent que l'héliothérapie ramènerait à la normale les calcémies basses. Cependant la technique employée semble peu précise (Ca précipité dans le filtrat trichloracétique) et la moyenne des calcémies, mesurées chez douze malades avant et après héliothérapie, reste sans changement.

Brockmuller (182) trouve une légère variation saisonnière. Pour cet auteur la séro-calcémie passerait par un minimum en décembre - janvier (90 mg.) et par un maximum en avril-mai (95 mg.).

Au sujet de la fraction du sang sur laquelle doit être effectué le dosage, **Fauth** (211) confirme qu'il n'existe pas de différence appréciable entre le taux du calcium du plasma et celui de la quantité de sérum correspondante.

Les variations de la calcémie au cours de la *période post-opératoire* présentent un réel intérêt au point de vue de l'interprétation des résultats obtenus lors des parathyroïdectomies.

Menegaux, Guillaumin et Pergola (261) trouvent chez 10 opérés sur 11 une hypocalcémie post-opératoire d'environ 10 p. 100 du taux de la calcémie pré-opératoire.

Davidovitch (205) confirme l'existence d'une hypocalcémie post-opératoire.

Signalons encore sur ce sujet un travail de **Carulli et Pallini** (83).

Parmi les causes de cette hypocalcémie il semble falloir écarter l'anesthésie, l'inanition et l'insuffisance rénale transitoire, d'après **Menegaux, Guillaumin et Pergola.**

Les recherches de **Cheymol** sur le chien confirment également que pendant les premiers jours de jeûne la calcémie n'est que peu modifiée, une baisse de 7 à 15 p. 100 pouvant être observée après seulement sept jours de jeûne.

C'est le choc sympathique qui semble être la cause de cette hypocalcémie, **Grégoire** ayant trouvé une hypocalcémie après une sympathectomie (218). Notons cependant que **Cheymol** (35) a montré que l'injection au lapin de substances paralysantes du sympathique n'a provoqué aucune modification du calcium sanguin.

L'hémorragie provoquée par l'intervention ne semble pas être en cause. **Cheymol** ne trouve en effet chez le chien qu'une légère hypercalcémie terminale après des saignées répétées toutes les cinq minutes.

Seules des hémorragies abondantes répétées tous les deux ou trois jours font baisser la calcémie.

En conclusion, la calcémie mesurée sur le sérum provenant d'un sang prélevé avec un minimum de stase par ponction veineuse chez un sujet à jeûn, le sérum étant assez rapidement séparé du caillot, est très fixe et habituellement comprise entre 95 et 100 mg.

On observe cependant de légères variations au cours des 24 heures, des variations plus marquées pouvant atteindre 10 p. 100 d'un jour à l'autre, et peut-être de légères variations saisonnières.

Ces variations nous conduisent à ne considérer comme pathologiques que les chiffres de séro-calcémie inférieurs à 90 mg ou supérieurs à 105 mg.

La calcémie est fréquemment abaissée dans les derniers mois de la grossesse.

Elle est habituellement abaissée d'environ 10 pour 100 dans la période post-opératoire.

TROISIEME PARTIE

LA CALCEMIE DANS LES AFFECTIONS OSSEUSES

Les affections les plus diverses peuvent apporter des perturbations dans la calcification du squelette.

Le plus fréquemment, on constate une décalcification plus ou moins étendue ; parfois enfin une migration du calcium provoquant une décalcification locale s'accompagnant de dépôts de calcium dans le voisinage.

Ces affections sont très nombreuses et leurs causes les plus diverses.

Nous les classerons :

1° En affections provoquant des troubles de calcification portant sur tout le squelette.

2° En affections provoquant des troubles de décalcification localisés à un ou plusieurs os.

Parmi les premières nous retiendrons tout particulièrement :

A. — Les affections endocriniennes du squelette.

B. — Les affections du squelette liées à des troubles de la nutrition.

Nous n'avons recherché dans ces affections osseuses que les variations de la séro-calcémie, et avons délibérément laissé de côté les variations des autres éléments, en particulier celles du phosphore et des phosphatases, souvent rencontrées dans les troubles de la calcification,

CHAPITRE I

LES AFFECTIONS ENDOCRINIENNES DU SQUELETTE

Coryn (190) a nettement précisé les conditions que devaient présenter les affections osseuses pour que l'on puisse leur attribuer une origine endocrinienne.

Nous rappellerons les règles qu'il a établies.

1° Les affections endocriniennes du squelette sont toujours généralisées à tous les os ou tous les cartilages du squelette.

Les affections mono-osseuses ou pauci-osseuses ne sont pas d'origine endocrinienne

2° Quand l'hypofonctionnement d'une endocrine fait apparaître une modification du squelette déterminée, l'hyperfonctionnement de la même endocrine fait toujours apparaître la modification osseuse inverse.

3° Quand le trouble du fonctionnement d'une endocrine détermine une modification du squelette, cette modification apparaît chaque fois que le fonctionnement de l'endocrine est troublé.

4° Toutes les modifications osseuses d'origine endocrinienne trouvent leur expression dans une accélération ou un ralentissement d'une des phases de l'ostéogenèse enchondrale.

I. — Affections osseuses d'origine hypophysaire.

La mobilisation calcique observée pendant les premières semaines de la **grossesse** est attribuable à l'hypophyse. Cependant nous avons vu que cette mobilisation calcique se fait sans que la calcémie soit

modifiée pendant cette première période de la grossesse.

En pathologie osseuse, les lobes postérieur et intermédiaire ne semblent jouer aucun rôle. Par contre, les lésions des cellules du lobe antérieur peuvent provoquer des troubles de la calcification.

a) *La maladie de Cushing*, liée à un hyperfonctionnement des cellules basophiles, s'accompagne souvent de décalcification du squelette.

Cependant **Coryn** (191), constatant dans le syndrôme de Cushing de fréquentes associations pluri-endocriniennes dit qu'il est impossible de pouvoir attribuer cette affection au basophilisme ou à un trouble endocrinien associé.

Une observation de **Hanssen** (223) fait mention d'une calciurie fortement augmentée, mais sans ostéoporose décelable aux rayons X. **la calcémie est normale.**

b) *L'acromégalie* due à un adénome à cellules éosinophiles de l'hypophyse est caractérisée par une augmentation de volume des extrémités.

Les troubles de la calcification sont attribués par certains auteurs à la lésion hypophysaire.

Mathieu, Pierre Weil et Guillaumin (66) rapportent trois observations de **Waldorps** et une de **Laignel Lavastine et Morlaas** dans lesquelles la calcémie était nettement abaissée. Cependant les observations récentes, appuyées sur des dosages plus précis, ne confirment pas cette opinion.

Pour **Coryn** (191), en effet, les troubles de la calcification parfois observés ne relèvent pas de la lésion hypophysaire, mais des troubles endocriniens associés.

L'étude d'un cas d'acromégalie pure, sans troubles endocriniens associés, lui montre que la seule lésion hypophysaire ne provoque ni modification de la calcification du squelette, ni modification de la calcémie.

c) *Le nanisme hypophysaire* est dû à un hypofonctionnement des cellules éosinophiles de l'hypophyse.

L'étude d'un cas de nanisme hypophysaire, sans

troubles endocriniens associés, montre à **Coryn** (191) que les troubles de la calcification sont minimes. Il note une très légère diminution de l'opacité radiographique des os. Le bilan calcique n'est que très faiblement déficitaire, **et la calcémie est à la limite supérieure des chiffres normaux** pour la technique employée.

d) *Le gigantisme hypophysaire* serait dû au contraire à un hyperfonctionnement des cellules éosinophiles de l'hypophyse du sujet jeune.

Nous n'avons pas trouvé d'observations de gigantisme hypophysaire comportant l'étude de la calcification et donnant de chiffre de la calcémie.

Les arthrites des acromégaliques sont caractérisées histologiquement par des lésions du cartilage de conjugaison.

Les troubles de la calcification ne semblent jouer aucun rôle important dans ces arthrites : **la calcémie est normale.**

2. — Affections osseuses liées à un trouble de fonctionnement des glandes sexuelles

Des ostéoarthrites survenant à la suite de castration ou de ménopause ont conduit à attribuer aux glandes génitales un rôle dans le processus de fixation du calcium.

La castration pratiquée dans le jeune âge provoque des modifications staturales : taille élancée, tête petite, membres longs.

On observe un retard dans l'apparition des noyaux d'ossification des cartilages de conjugaison.

Les cas d'hypergénitalisme présentent des syndrômes exactement opposés.

Il ne semble pas que les glandes sexuelles exercent une influence sur la calcification du squelette.

Cotte (198) trouve fréquemment une hypocalcémie après hystérectomie. Mais la baisse constatée est de 10 p. 100 et nous avons vu que toute intervention chirurgicale entraîne une baisse de cet ordre.

Dalsace (202) trouve la calcémie et la phosphatémie abaissées après castration, et constate radiogra-

phiquement une raréfaction osseuse au niveau des épiphyses.

Expérimentalement, **Cheymol,** opérant sur des chiens mâles et femelles, constate que ni l'ablation des ovaires ni celle des testicules ne modifie la calcémie.

Mathieu, Pierre Weil et **Guillaumin** (66) donnent un résumé des travaux effectués sur les variations de la calcémie observées chez la femme sous l'influence de la menstruation normale ou lors des dysménorrhées et après castration ou ménopause et ils concluent à la suite des dosages qu'ils ont effectués que :

1° Les variations de la calcémie sont très rares au moment des règles.

2° Chez les femmes dysmémorrhéiques la calcémie est toujours comprise dans les limites physiologiques.

3° Après castration on observe une légère hypocalcémie passagère.

4° Lors de la ménopause la calcémie reste habituellement normale, quelques cas d'hypocalcémie pouvant être toutefois observés.

La question des *arthrites* d'origine ovarienne est très discutée.

Des cas de guérison d'ostéomalacie par hystérectomie et de nombreux cas de rhumatisme, survenus à la suite de ménopause ou de castration, ont conduit de nombreux auteurs à attribuer à l'arrêt ou à la suppression de la fonction ovarienne le principal rôle dans les accidents arthritiques observés.

Coryn (192) n'est pas de cet avis ; les ennuques ne présentant pas d'arthrites et la grande majorité des cas de castration chez la femme ne s'accompagnant pas d'arthrites, surtout si la castration est pratiquée chez la femme jeune.

La calcémie est souvent normale lors du rhumatisme ovarien.

Cependant, dans un certain nombre de cas, **Mathieu, Pierre Weil** et **Guillaumin** signalent une hypocalcémie nette.

3. — Affections osseuses liées à un dysfonctionnement thyroïdien

L'hypothyroïdie de l'enfant est marquée par un retard de la croissance aboutissant à un nanisme modéré mais dysharmonique et parfois asymétrique.

Coryn (194) trouve dans tous ces cas une hypercalcification du squelette ; l'os est dur, la corticale épaisse et la médullaire occupée par des travées osseuses volumineuses bordée d'ostéoblastes.

Les résultats des dosages de la calcémie effectués sur des animaux thyroïdectomisés sont rapportés par **M.-P. Weil** et **Guillaumin** (66). Ces résultats sont tellement contradictoires qu'il est impossible d'en tirer la moindre conclusion.

Les arthrites auxquelles peut donner naissance cette hypothyroïdie se traduisent par un aplatissement des têtes articulaires, principalement aux hanches, aux épaules et aux genoux. Néanmoins, malgré l'augmentation de la fixation du calcium, la calcémie reste normale.

Chez les *hyperthyroïdiens* au contraire on observe une croissance rapide de l'enfant ; mais cette croissance s'arrête précocement par suite de la soudure prématurée des cartilages de conjugaison.

On observe une ostéoporose diffuse généralisée et **des fractures spontanées** sont souvent observées après plusieurs années d'évolution. Mais, l'ostéoporose s'étant établi lentement, la calcémie reste normale.

4. — Influence de diverses glandes sur la calcification Thymus — Rate — Surrénale

Thymus. — Expérimentalement la thymectomie entraîne un retard de croissance et un ralentissement marqué de l'ossification. Elle provoque la production de kystes dans la substance osseuse.

Pour **Leites** (239) il y aurait hypocalcémie après thymectomie, mais ce fait n'a pas été confirmé.

Cliniquement aucune affection osseuse caractérisée ne semble pouvoir être attribuée à un trouble de fonctionnement du thymus.

Rate. — L'ablation de la rate provoquerait de l'hypocalcémie d'après certains auteurs. Cette opinion n'est pas confirmée par **Underhill et Gross** (285), ni par **Cheymol** (35) qui ne trouvent aucune modification de la calcémie après splénectomie.

Cliniquement aucune affection osseuse n'est attribuée à un trouble du fonctionnement de la rate.

Surrénale. — Divers auteurs, estimant que l'adrénaline et les extraits surrénaux fixaient le calcium, ont administré ces produits dans un but thérapeutique dans le traitement du rachitisme et de l'ostéomalacie. Mais cette opinion est critiquée par nombre d'autres cliniciens et en particulier par **Mouriquaud** et ses élèves (267) qui nient tout pouvoir antirachitique à l'adrénaline et aux extraits surrénaux, et attribuent même à l'adrénaline un pouvoir antifixateur du calcium.

Aucun syndrôme osseux caractérisé ne semble pouvoir être rattaché à un dysfonctionnement des surrénales.

Les insuffisances surrénales ne semblent avoir aucune action directe sur la calcémie

5. Affections osseuses d'origine parathyroïdienne

Les affections osseuses parfois observées lors des insuffisances glandulaire précédemment étudiées sont liées à des troubles de la calcification, secondaires à des lésions du cartilage.

Les affection liées à des troubles parathyroïdiens sont au contraire caractérisées par des troubles portant de façon élective sur la calcification du squelette et le rôle des parathyroïdes sur la calcémie est nettement établi.

Les travaux publiés sur ce sujet sont très nombreux. Nous ne ferons que rappeler brièvement ceux antérieurs à 1936. En effet, de nombreuses mises au point de la question ont été effectuées par **M.-P. Weil et Guillaumin** (66) en 1930, par **Ch.O. Guillaumin** (64) et par **Lièvre** en 1932 (251), par **Welti** (291) et par **Jung** (229) en 1933, par **Chifoliau et Braine** (184) et par **Binet** (181) en 1935, et par **Bernard et Henry** (177) en 1936.

Nous ne reproduirons pas la très importante bi-

bliographie contenue dans ces divers rapports et donnerons seulement les références des travaux les plus intéressants parus sur ce sujet entre 1936 et 1944 (1).

A). — *Hypoparathyroïdie* — L'ablation totale de l'appareil parathyroïdien provoque chez l'animal une baisse de la calcémie dès les premières heures. La baisse de la calcémie se poursuit ensuite sans interruption jusqu'à la mort de l'animal qui survient habituellement 5 à 9 jours après la parathyroïdectomie. Au moment de la mort la calcémie est d'environ 40 p. 100 de la calcémie initiale (**Cheymol**) (65).

Les accidents tétaniques débutent habituellement vers la 48e heure lorsque la calcémie est diminuée d'environ 30 p. 100. Il n'y a pas cependant un parallélisme rigoureux entre l'intensité des accidents tétaniques et le taux de la calcémie.

C'est la fraction ionisée qui est la plus abaissée et semble conditionner la gravité des accidents tétaniques d'après **Gyorgy** (222).

Le traitement de l'hypoparathyroïdie consiste en administration de sels de calcium, de Vitamine D. et d'A.T. 10. (275). Il est possible avec ces traitements de faire survivre des animaux ayant subi une parathyroïdectomie totale.

L'influence des parathyroïdectomies partielles est plus difficile à interpréter.

Expérimentalement chez l'animal **Cheymol** (35) ne trouve aucune baisse de la calcémie après l'ablation de deux parathyroïdes. L'ablation d'une troisième parathyroïde n'amène encore aucune baisse de la calcémie. Seule l'ablation de la dernière parathyroïde, devenue globuleuse et turgescente amène la chute de la calcémie. **Weiss, Monguio et Bernard** (288), puis **Leriche et Jung** (245) confirment ces constatations.

Par contre, on observe fréquemment chez l'homme, lors des interventions sur le corps thyroïde ou les parathyroïdes, des accidents de tétanie, alors que une, deux ou trois parathyroïdes ont été laissées en place.

On peut attribuer ces accidents au fait que les

(1) A l'exception des publications parues entre 1940 et 1944 dans les pays anglo-saxons.

glandes laissées en place ont été rendues fonctionnellement inexistantes par le traumatisme opératoire ou par ischémie, à la suite de ligatures, ou par inhibition réflexe.

Dans ces cas d'hypoparathyroïdisme on note, outre l'hypocalcémie, un bilan calcique positif d'après **Coryn** (193) et **Leriche et Jung** (245) et une hypercalcification du squelette d'après **Coryn** (195).

Dans l'hypoparathyroïdisme les accidents tétaniques dominent et les troubles osseux ne donnent pas d'affections osseuses cliniquement caractérisées. Seuls les troubles osseux, observés dans la maladie de **Gee** s'accompagnant d'hypocalcémie, semblent pouvoir être causés par un hypoparathyroïdisme fonctionnel, d'après **Fiessinger** (213). **Izod Bennet** (227) attribue les troubles observés à la non absorption intestinale et à l'achylie.

Dans la sprue nostras **Turpin, Guillaumin et Lafont** (284) retrouvant les mêmes troubles de l'assimilation du calcium avec hypocalcémie, les attribuent également aux troubles intestinaux, mais pensent que l'hypoparathyroïdisme peut en être la cause.

B. — *Hyperparathyroïdie.* — *Expérimentalement* on peut réaliser l'hyperparathyroïdisme par injection d'extrait parathyroïdien ou plus difficilement par greffe de glandes parathyroïdes.

Collip ayant isolé en 1935 une hormone parathyroïdienne d'action constante, put reproduire les symptômes de l'hyperparathyroïdisme qui sont :

1° Une augmentation marquée de la calcémie qui peut atteindre 200 mg. Cette augmentation très intense si le sujet est soumis à un régime riche en calcium est encore manifeste quoique moins intense si le sujet est maintenu à un régime très pauvre en calcium.

L'effet maximum se produit 16 heures après l'injection et la calcémie revient à la normale après 36 heures.

2° Hypophosphatémie.

3° Hypercalciurie et hyperphosphaturie se traduisant par une brusque augmentation du Ca et du P uriraire. Le Ca et le P fécal ne sont pas modifiés.

Les bilans du Ca et du P sont très fortement négatifs.

4° Modifications du squelette caractérisées par une perte du calcium des os.

5° On observe des calcifications métastatiques dans divers tissus : poumons, reins, tube digestif, des troubles digestifs, de l'hypotonie musculaire, de l'hypoéxcitabilité neuro-musculaire, des modifications cardio-vasculaires.

Anatomiquement les lésions du squelette consistent en une décalcification se traduisant par une ostéoporose diffuse.

La fibrose et les kystes caractéristiques de la maladie de Recklinghausen ont été obtenus également, quoique de façon plus rare par hyperparathyroïdisme expérimental chez l'animal ; chez deux lapins sur vingt par **Pergola** (270) et chez le rat par **Leriche, Jung et Sureyga.**

Maladie de Recklinghausen. — Au point de vue étiologique, deux hypothèses sont discutées :

a) L'adénome parathyroïdien peut apparaître de façon primitive comme toute hyperplasie sans que la cause en soit connue.

b) Ou bien l'adénome ne serait que secondaire à des troubles du métabolisme calcique ayant provoqué une hypertrophie parathyroïdienne en favorisant ainsi la transformation adénomateuse.

De toutes façons l'adénome constitué apparaît bien comme la cause directe de la maladie de Recklinghausen et demande à être extirpé **Jung** (229).

Les symptômes osseux sont la douleur osseuse et les fractures spontanées.

A la radiographie on observe une décalcification généralisée du squelette et, quoique plus tardivement et de façon inconstante, des kystes osseux et tumeurs osseuses.

Le métabolisme calcique se traduit par une hypercalciurie marquée et un bilan calcique fortement négatif. Des dépôts calcaires métastatiques peuvent se rencontrer dans tous les organes.

La calcémie est fortement augmentée dans presque tous les cas.

Cependant une calcémie normale ou légèrement augmentée ne doit pas faire éliminer l'existence d'une ostéite fibro-kystique ou la présence d'un adénome.

Le traitement consiste dans l'ablation de l'adénome qu'il faudra parfois rechercher avec soin. Dans certains cas cependant il n'a pas été possible de le déceler.

Rappelons enfin que l'ablation de l'adénome entraîne presque constamment une période d'hypoparathyroïdie. Après adénomectomie la calcémie tombe au-dessous de la normale et revient ensuite au taux normal.

Pour notre part, nous avons trouvé chez une malade atteinte d'ostéite fibro-kystique, une séro-calcémie à 150 mg. Mais cette malade ayant quitté Berck, nous n'avons pu la suivre.

Certains auteurs ont donné des chiffres de calcémie atteignant 236 mg.

Les chiffres normaux signalés dans quelques cas sont sujets à des réserves ; en effet, la calcémie est assez variable suivant que la maladie est dans une phase évolutive, ou au contraire, comme cela s'observe parfois, en période de répit. Il importe donc dans ces cas de renouveler les dosages de calcémie et d'établir un bilan calcique.

On trouvera dans le rapport de **Jung** (229) l'étude de 82 cas de maladie de Recklinghausen traités par ablation de l'adénome depuis 1925, date de la première intervention pratiquée par **Mandl.**

En 1934 le nombre des cas publiés atteint 115 (**Gutman-Swenson-Parson**) (221). Dans 14 de ces cas l'adénome n'a pu être trouvé et l'on n'a pu noter qu'une hyperplasie du tissu parathyroïdien (**Albricht-Blomberg-Castle-Mann-Churchill** (75) ; mais bien souvent l'adénome est très difficile à trouver, la glande n'occupant pas une position normale : **Emslie-Fraser-Dunthill-Vick-Harris-Dauphinee** (209).

En 1939 **Weissenbach et Lièvre** (289) réunissent 150 observations d'ostéite fibreuse avec adénome parathyroïdien et notent que les cas où l'adénome n'a pu être découvert sont de moins en moins nombreux.

Dans presque toutes ces observations la calcémie était augmentée, comprise habituellement entre 120 et 150 mg. et dépassant parfois 200 mg.

Notons que les symptômes osseux de certaines formes de la maladie de Recklinkhausen peuvent être si discrets qu'ils passent inaperçus et que les accidents néphrétiques par infarctus calcaires dans les tubuli dominent seuls la scène. Ces néphrites avec hypercalcémie doivent inciter à rechercher l'adénome parathyroïdien (**Snapper**) (281). Parfois ce sont les troubles digestifs qui dominent (**Morelle**) (262).

B. — *L'ostéose parathyroïdienne.* — Il existe des cas d'ostéose parathyroïdienne rappelant l'ostéomalacie dans lesquels on observe seulement une décalcification diffuse du squelette sans fibrose et sans kystes. Dans ces cas on trouve une calcémie augmentée, le plus souvent comprise entre 110 et 130 mg. ; mais dans ces formes légères la calcémie revient à la normale pendant les périodes de rémission. Souvent la preuve parathyroïdienne a été faite par la découverte d'un adénome (**Maresch**). Ces cas ne semblent être que des formes frustes et peu évolutives de la maladie de Recklinghausen.

CHAPITRE II

AFFECTIONS GÉNÉRALISÉES DU SQUELETTE LIÉES A DES TROUBLES DE LA NUTRITION

La plupart des troubles de la nutrition peuvent s'accompagner de troubles de la calcification, pouvant atteindre de façon plus ou moins profonde, tout ou partie importante du squelette.

Les troubles de la nutrition influencent en effet le métabolisme calcique agissant soit sur l'apport, soit sur la fixation, soit sur la sortie du calcium.

1. — Ostéopathies par apport insuffisant de calcium

Ostéopathies de famine. — Ces ostéopathies, observées dans les pays d'Europe centrale pendant la guerre de 1914-1918, se traduisent par une ostéoporose avec douleurs osseuses vives, sans déformations et intéressant plus particulièrement les dernières côtes, la ceinture pelvienne et le rachis.

De nombreux cas ont été observés en France dans les grandes villes durant les années 1943 et 1944. **De Sèze** et **Monnier** (277) et **Decourt** (206) en rapportent plusieurs observations.

Le traitement par le calcium, le phosphore et la vitamine D. à fortes doses donne d'excellents résultats.

Dans tous ces cas on trouve une calcémie à la limite inférieure des chiffres normaux ou de l'hypocalcémie.

II. — Ostéopathies par insuffisance d'apport et insuffisance de fixation du calcium

Ostéomalacie. — L'ostéomalacie s'observe surtout chez la femme, en particulier à la suite de gros-

gesses répétées et de la lactation. Le surmenage, l'insuffisance alimentaire semblent également en cause.

On constate dans l'ostéomalacie une décalcification des travées osseuses et une résorption des sels calcaires.

L'hypocalcémie est habituelle et s'accompagne d'hypophosphorémie avec hyperphosphatasémie.

Nous avons observé en 1939 un cas d'ostéomalacie puerpuérale : Une mère de neuf enfants allaitant son dernier-né, alors âgé de 4 mois, présentait des douleurs dans la région du sacrum et des hanches l'obligeant à garder le lit ; femme d'un ouvrier tailleur, elle avait, ainsi que ses enfants, une alimentation insuffisante et vivait dans un local exigu et obscur. La calcémie était à 81 mg.

Le bilan calcique dans l'ostéomalacie est fortement positif.

L'étiologie de cette affection est très discutée.

Nous ne pensons pas que l'ostéomalacie soit d'origine endocrinienne. En effet, nous avons vu que les troubles d'origine ovarienne, thyroïdienne et surrénale, n'ont pas d'influence nette sur les troubles de la calcification.

En ce qui concerne l'influence des parathyroïdes nous pensons que le chiffre de la calcémie doit permettre de séparer l'ostéomalacie qui s'accompagne d'hypocalcémie des troubles de décalcification s'accompagnant d'hypercalcémie et que nous considérons comme des formes légères d'ostéoses parathyroïdiennes.

Dans un cas d'ostéomalacie fruste que nous avons pu suivre quelque temps, nous avons, au premier sosage, trouvé une calcémie à 105 mg. Quelques semaines plus tard la calcémie était descendue à 94 mg. Après traitement par le calcium associé à la vitamine D., la calcémie était remontée à 109 mg.

Il est cependant possible que cette distinction devienne difficile à faire après plusieurs années d'évolution, les troubles de décalcification ostéomalacique pouvant provoquer à la longue une hyperplasie parathyroïdienne élevant alors la calcémie. Mais de toute façons les troubles parathyroïdiens dans l'ostéomolacie ne seraient que secondaires et ne sauraient être

considérés comme facteur étiologique de cette affection.

Nous pensons que la cause première de l'ostéomalacie est double.

1° La carence calcique d'autant plus marquée qu'à des apports peu importants correspondent des besoins fortement augmentés, ce qui est la règle chez les femmes enceintes et les nourrices.

2° La carence en vitamine D. entraînant un manque de fixation du calcium. Cette carence en vitamine D. étant due à une alimentation insuffisante ou à la diminution de la formation endogène de la Vitamine D. soit par carence solaire, soit par troubles infectieux ou plus souvent toxiques.

Cette théorie, attribuant l'ostéomalacie à une déficience en calcium et en vitamine D., se trouve appuyée par le fait que le traitement par le calcium et la vitamine D à hautes doses a donné d'excellents résultats dans de nombreux cas d'ostéomalacie.

Parmi les nombreuses observations publiées et concluant dans ce sens, citons celles de **Harvier et Lafitte** (224), celles de **Kleine** (252), celles de **Margitay, Becht et Gomori** (257) et celle de **Coste** (196).

Ces auteurs considèrent l'ostéomalacie, comme le rachitisme du système osseux de l'adulte.

Ostéoporoses. — L'ostéomalacie du vieillard est caractérisée par la prédominence des douleurs à la colonne vertébrale. Nous en avons observé récemment un cas. Nous n'avons pu effectuer le dosage de la calcémie ; mais l'insuffisance d'apport de calcium alimentaire y était évidente, et le traitement par le calcium et la vitamine D. a donné une rapide et complète cessation des douleurs.

Decourt (206) pense également qu'outre la carence calcique fréquente, le facteur causal essentiel est la diminution de la formation endogène de la vitamine D.

L'ostéoporose de l'enfant, caractérisée par une décalcification diffuse du squelette, semble être due surtout au déficit en calcium, alors que le rachitisme, qui est caractérisé plus spécialement par des troubles de l'ossification enchondrale, semble être dû plutôt à un déficit de vitamine D.

III. — Ostéopathies par insuffisance de fixation du calcium

A. — *Rachitisme.* — Cliniquement le rachitisme débute vers la fin de la première année par des signes généraux (troubles gastro - intestinaux, diarrhée, sueurs) et des douleurs dans tout le système osseux. Souvent ces signes sont peu prononcés et le début du rachitisme est insidieux.

Les déformations osseuses apparaissent ensuite.

Anatomiquement on constate :

1° Des troubles de l'ossification enchondrale.

L'infiltration calcaire se fait en granulations restant séparées les unes des autres par du cartilage.

2° Des troubles de l'ossification périostique, la moelle se transforme en faisceaux conjonctifs chargés d'osséine et peu calcifiés constituant le tissu ostéoide.

L'étiologie et la pathogénie de cette affection ont été l'objet de nombreux travaux. En 1921 **Pappenheimer, Hess** et **Mac Cann** reproduisent expérimentalement le rachitisme chez le rat par suppression du phosphore de l'alimentation. Ils constatent ensuite que les rayons ultra-violets empêchent et guérissent cette dystrophie expérimentale. **Hume** constate en 1922 que certains corps soumis à l'irradiation ultra-violette peuvent par ingestion donner les mêmes effets antirachitiques que les radiations elles-mêmes.

En 1927 **Windaus** montre que l'ergostrol est facilement activable. Les stérols de la peau, chez l'homme et chez les animaux, peuvent se transformer en vitamine D quand la peau est soumise à l'action de la lumière solaire riche en radiations ultra-violettes.

Il apparaît ainsi que ni l'hypophosphatémie, ni l'hypocalcémie observées de façon d'ailleurs inconstante dans le rachitisme ne sont les causes premières de cette affection. Les troubles de la calcification ne sont que la conséquence des troubles de l'ossification.

Le bilan calcique est moins positif qu'il n'est normalement chez l'enfant et parfois négatif dans les formes graves.

La carence calcique ne peut, dans le rachitisme de la première enfance, être mise en cause, le lait étant

riche en calcium sous une forme assimilable. C'est donc le manque de fixation du calcium qui semble le facteur essentiel des troubles de l'ossification.

La carence en vitamine D. en est la cause principale. Cette carence peut être due à la carence en lumière solaire. Cependant dans de nombreux cas de rachitisme ce facteur ne semble pas en cause.

Elle peut être due à l'insuffisance de l'apport de vitamine D par l'alimentation. Cependant, il semble que la fraction apportée par l'alimentation soit beaucoup moins importante que la fraction formée dans l'organisme. Chez le jeune enfant le lait apporte d'ailleurs une petite quantité de cette vitamine.

Il semble donc que plus qu'une carence d'apport en vitamine D, il faille invoquer un trouble de la formation ou de l'absorption de cette vitamine, ou sa destruction par l'organisme.

Marfan (256) attribue un rôle primordial à l'infection et à l'intoxication, car le rachitisme peut être observé lors de toutes les infections ou intoxications survenant en période de croissance des os.

Pour **Mouriquand** (264) le déséquilibre phosphocalcique serait la cause première d'un rachitisme inapparent, pouvant être aggravé et ainsi révélé cliniquement, par des troubles digestifs, une infection, ou la carence solaire.

Pour **Lecoq** (235) le déséquilibre phosphocalcique seul ne peut produire le rachitisme ; la carence en lumière solaire et en vitamine D est également nécessaire ; mais cet auteur constate que le déséquilibre minéral agit surtout s'il est générateur d'alcalose.

Cette alcalination du tractus digestif par le régime rachitigène cède à l'adjonction de vitamine D au régime. — **Lecoq** (236).

Ceci montre l'importance que prennent, dans l'éclosion du rachitisme, les troubles intestinaux qui la précèdent de façon constante.

Beotegat étudiant douze cas de rachitisme trouve la calcémie normale sept fois, augmentée deux fois et abaissée trois fois. L'hypophosphatémie n'est pas constante. L'hyperphosphatasémie n'est pas non plus constante et n'est pas proportionnelle à l'intensité des lésions.

Si le mécanisme par lequel ces troubles peuvent provoquer la carence en vitamine D est mal précisé, deux faits demeurent certains :

1° Les bons résultats obtenus dans le traitement du rachitisme par la vitamine D administrée à dose suffisante, cette vitamine protégeant l'os et le cartilage en croissance.

2° La vitamine D augmente la calcémie (**Cheymol** (35) et réminéralise le tissu osseux, et ceci en l'absence de toute action parathyroïdienne (**Sœur** - 283).

B. — *Rachitisme tardif.* — Le rachitisme du grand enfant se caractérise surtout par une lente évolution des déformations osseuses qui, au lieu de se redresser spontanément, tendent à s'accentuer. Les scolioses rachitiques qui évoluent le plus souvent entre 2 et 7 ans, sont les plus fréquentes de ces déformations.

Douze dosages de la calcémie effectués par nous chez quatre de ces malades ont donné des chiffres compris entre 89 et 104 mg. avec une moyenne de 98 mg. ; c'est-à-dire une calcémie normale.

C. — *Ostéopathies consécutives à des troubles intestinaux.* — Les troubles osseux observés dans la maladie de **Gee** et dans la Sprue nostras ont été rattachés par certains auteurs à l'hypoparathyroïdie.

Il nous semble cependant que la nature parathyroïdienne de ces troubles n'est pas démontrée et que les troubles osseux et l'hypocalcémie qui les accompagnent sont beaucoup plutôt dus à une insuffisance d'absorption du calcium ou de la vitamine sous l'influence des troubles intestinaux ; l'achylie, caractérisant souvent ces troubles intestinaux, nous semble en particulier pouvoir entraver sérieusement l'absorption de la vitamine D, et nous savons également que les troubles intestinaux abaissent nettement la calcémie, ce que, comme **Meerssemann et Seguin** (260), nous avons observé de façon fréquente au cours des tuberculoses intestinales.

Lance et Girard (1) étudiant les ostéoporoses et

---

(1) Lance, L. Girard et P. Lance : *Revue d'orthopédie* — 1938, tome 25, N° 5, page 385.

maladies du rachis chez l'adulte constatent l'importance du défaut d'absorption intestinale du calcium dans ces ostéoporoses.

Les entéro-colites, les entérites, les collibacilloses, l'insuffisance hépatique sont les causes habituelles de ces ostéopathies et elles provoquent des troubles d'absorption des vitamines et une hyperphosphatasémie qui seraient cause du défaut de fixation du calcium sur le squelette.

Avec **Delahaye** nous avons constaté dans les ostéopathies avec troubles intestinaux étudiées par nous, une augmentation des chiffres des bases de putréfaction et des acides de fermentation mesurés par la méthode de Goiffon. L'élévation de la valeur absolue, toujours plus importante des acides de fermentation, entraîne une déviation de l'équilibre acide base de l'organisme se traduisant par une nette augmentation de l'acidose (rapport AT/U de Goiffon, habituellement entre 40 et 50) et par la suite une hypercalciurie qui semble bien être une des causes principales de la décalcification observée.

IV. - Ostéopathies par troubles de l'élimination calcique

Syndrôme ostéo-rénal. — Les néphrites chroniques de l'enfant peuvent s'accompagner de troubles osseux aboutissant au nanisme rénal.

Survenant chez l'enfant plus grand, l'infantilisme remplace le nanisme. D'autre part, dans certains cas, on observe des dystrophies osseuses analogues à celles observées dans le rachitisme commun et conduisant au rachitisme rénal.

L'atteinte rénale est caractérisée par une azotémie dépassant généralement 1 g., une polyurie avec albuminerie modérée et cylindrurie parfois intermittantes. L'élimination de la phénolsulfonephtaléine est très diminuée. L'*hypocalcémie* est habituelle et s'accompagne d'hyperphosphorémie et d'acidose.

Dans un cas observé par nous l'enfant âgée de 5 ans avait la taille d'une enfant de 3 ans et présentait quelques déformations rachitiques au niveau du thorax et des membres inférieurs. L'azotémie dépassait 2 g. La calcémie était à 71 mg.

Mitchelli d'après **Debre, Marie** et **Jammet** (205) attribue l'hypocalcémie à la formation de phosphates de chaux insolubles et éliminés par l'intestin. Mais cette étiologie semble peu probable, il nous semble qu'il faille incriminer beaucoup plus un trouble de l'excrétion qu'un trouble de la fixation du calcium ; d'ailleurs le traitement par la vitamine D ne donne aucun résultat. Il nous semble qu'il y ait abaissement du seuil d'excrétion du calcium. Cet abaissement du seuil pouvant être dû aux modifications des albumines du sang (on note en particulier une inversion du rapport sérine/globuline), la charge minérale des albumines pouvant être modifiée par l'acidose observée de façon constante dans le syndrôme ostéo-rénal.

Debre, Marie et **Jammet** (205) notent également la constance de cette acidose à laquelle **Mach** et **Rutishauser** (254) attachent une importance primordiale.

CHAPITRE III

OSTEOPATHIES PAR DESTRUCTION OSSEUSE

Le cancer généralisé des os donne une ostéose diffuse atteignant le squelette en de nombreux points par suite de métastases multiples consécutives le plus fréquemment à un cancer du sein, de la prostate, de l'intestin ou des bronches.

Dans tous ces cas on observe une *hypercalcémie* importante comprise habituellement entre 140 et 200 mg. Cette hypercalcémie n'est que le résultat de la libération du calcium par suite de la destruction de l'os.

L'augmentation de la calcémie doit être d'autant plus importante que la destruction osseuse est plus rapide et le calcium libéré plus abondant. Le rein ne pouvant éliminer ce calcium de façon immédiate, la calcémie reste haute tant que cette libération de calcium persistera de façon continue, ce qui est habituel dans les cancers osseux où l'on n'observe guère de période de rémission.

Cette hypercalcémie coexistant parfois avec une hyperplasie parathyroïdienne a pu faire attribuer un rôle à ces glandes. Mais il est très certain que l'hyperparathyroïdie que l'on peut observer n'est que secondaire, consécutive à la déperdition calcique de l'organisme, mais pouvant à son tour aggraver les lésions osseuses.

Bernard, Boyer, Forge et **Mlle Gauthier-Villars** (180) et **Welti, Huguenin** et **Placa** (292) nous apportent quelques observations d'ostéose cancéreuse diffuse avec hyperplasie parathyroïdienne et attribuent également l'hypercalcémie à la destruction osseuse.

CHAPITRE IV

OSTEOPATHIES OSTEOCLASIQUES AVEC RECONSTRUCTION OSSEUSE

Dans ces ostéopathies on constate une ostéolyse souvent étendue et plus ou moins diffuse. Mais le calcium ainsi mobilisé se fixe en certains points provoquant des condensations osseuses ou envahissant les articulations.

I. — *Maladie de Paget.* — C'est une affection relativement rare, atteignant surtout les sujets âgés, plus fréquente chez l'homme, et semblant parfois héréditaire et familiale.

Elle se caractérise par une déformation des os avec prédilection marquée pour les os du crâne.

Bien que des formes localisées aient été décrites, il semble bien s'agir d'une affection généralisée du squelette.

La maladie évolue par poussées, séparées par de longues périodes de rémission.

Histologiquement on trouve le double processus d'ostéite raréfiante par résorption ostéoclasique et d'ostéite condensante anarchique conduisant à la formation d'un tissu ostéoide mal calcifié.

La décalcification provoque un ramollissement des os avec des déformations, mais rarement des fractures : les os se consolident ensuite en leur déformation. Cette décalcification s'accompagne de troubles vaso-moteurs importants, hyperthermie locale, augmentation de l'indice oscillométrique

La calcémie est habituellement normale. Dans un cas observé par nous en 1936 la calcémie était normale (98 mg.). **Labbe, Boulin, Escalier** et **Nepveux,** en 1932 (233), notent sur quatre cas deux calcémies normales, une élevée (114 mg.) et une basse (88 mg.),

Jung sur huit cas note les mêmes variations légères.

Le bilan calcique est habituellement normal ou légèrement positif.

Notons enfin que la phosphatasémie est élevée : **Jung** (229), **Guillaumin** (220).

Certains auteurs ont pensé que la maladie de Paget et la maladie de Recklinghausen pouvaient avoir une commune étiologie. Ce point de vue semble abandonné. La première parathyroïdectomie effectuée par **Mandl** l'aurait été d'après **Kienbock** (231) pour un cas de maladie de Paget pour lequel le diagnostic de maladie de Recklinghausen aurait été porté par erreur.

Le malade revu, huit ans après parathyroïdectomie, par **Kienbock**, avait continué à s'aggraver. Deux parathyroïdectomies faites par **Snapper** et deux autres par **Leriche** n'ont donné aucun résultat.

Le traitement par le gluconate de calcium et la vitamine ne donne aucun résultat (233). Signalons un essai de traitement fait par **Bermann** (179) dans dix-huit cas de maladie de Paget à l'aide de calcium et d'hormone cortico-surrénale. Les résultats obtenus auraient été très bons d'après cet auteur qui estime que l'homone cortico-surrénale entrave la mobilisation du calcium, agissant ainsi en antagonisme avec l'hormone parathyroïdienne.

Le léontiasis ossea est une ostéopathie hypertrophiante cranio-faciale. Affection rare se traduisant par une hyperostose infiltrant habituellement le maxillaire supérieur, puis se propageant aux autres os du crâne. Cette maladie évolue lentement en quinze à trente ans.

Il ne semble pas que cette affection d'évolution lente, caractérisée par un processus d'ostéite hypertrophiante important avec ostéolyse modérée, soit susceptible de modifier le taux de la séro-calcémie.

La maladie de Pierre Marie ou ostéo-arthropathie pneumique hypertrophiante est caractérisée par une hyperostose surtout localisée aux phalanges et aux épiphyses des membres.

Cette affection s'observe surtout au cours d'affections pulmonaires chroniques; elle évolue lentement et reste sans gravité.

Histologiquement on constate de la raréfaction osseuse associée à une condensation périostique.

Elle n'apporte pas de modification de taux de la séro-calcémie.

La mélorhéostose d'André Léri est une affection très rare constituée par une hyperostose compacte survenant sous forme de bosselures en traînée le long des os des membres.

Nous n'avons trouvé aucun renseignement sur l'étiologie de cette affection ni sur les troubles du métabolisme calcique qui peuvent l'accompagner.

L'ostéopétrose dont un cas a été décrit en France par **Péhau, Pelicart** et **Dufourt** (269) est caractérisé par un épaississement considérable de la diaphyse avec diminution de la spongieuse et du canal médullaire. Les os sont très durs, semblables à de l'ivoire ; mais à côté de ces zones hypercalcifiées, existent des zones de raréfaction, et on observe chez les malades des fractures spontanées guérissant d'ailleurs spontanément avec un cal exubérant.

La calcémie est habituellement normale, cependant **Schultze** signale de l'hypercalcémie.

Rhumatisme. — Nous n'envisagerons pas ici le rhumatisme articulaire aigü ni les arthrites pouvant survenir au cours de nombreuses affections aiguës.

Nous avons classé dans les affections endocriniennes du squelette les rhumatismes endocriniens dont le rhumatisme ovarien est le syndrôme semblant le vieux individualisé.

Nous envisagerons donc seulement les rhumatismes chroniques semblant de nature humorale.

Les facteurs étiologiques du rhumatisme chronique sont mal connus. L'hérédité semble jouer un rôle. Parmi les facteurs climatiques, le froid, l'humidité et l'ionisation atmosphérique semblent les plus importants.

Les troubles vasculaires semblent particulièrement intéressants à retenir, étant donné le rôle qu'ils peuvent jouer dans les phénomènes de calcification.

D'autre part, de nombreux auteurs ne considèrent pas le rhumatisme chronique comme une entité clinique, et pensent que le rhumatisme chronique n'est que la conséquence d'une toxémie.

Pour **Willcox** (293) la cause première du rhumatisme chronique serait l'infection streptococcique.

Le Floch (238) pense que les formes filtrantes du bacille tuberculeux seraient la cause habituelle du rhumatisme chronique. Ces étiologies ne semblent pouvoir être mise en évidence dans la plupart des cas.

Delahaye a bien mis en évidence, dans les ossifications vertébrales épiphysaires et dans les arthrites vertébrales douloureuses, le rôle des troubles intestinaux avec modifications du chimisme intestinal que nous avons déjà signalé plus haut (page 110). Parfois ces troubles intestinaux sont dus à une infection colibacillaire et peuvent s'accompagner de cobacillurie. Les troubles intestinaux et l'infection semblent bien jouer un rôle primordial dans ces formes de rhumatisme.

Il est très certain que dans toutes les arthrites chroniques on observe des mutations calciques locales au niveau des lésions ostéo-articulaires accompagnées de troubles de calcification plus ou moins généralisés du squelette.

Mais la calcémie ne reflète pas ces troubles du métabolisme calcique.

Ravault et Vincent (272) ne notent qu'une seule hypercalcémie sur 11 cas de rhumatisme de Charcot, et une sur cinq cas de rhumatisme d'Heberden. Au total, ils notent quatre hypercalcémies modérées sur vingt-quatre cas, et, par contre, cinq hypocalcémies également légères. Dans les autres cas la calcémie est normale.

Mouriquand (265) note que l'hypercalcémie est loin d'être constante dans les rhumatismes chroniques. **Weil et Guillaumin** (287) ne notent que de faibles modifications de la calcémie dans les manifestations articulaires.

Coste, Grigaut et Charmant (197) trouvent toujours des chiffres de calcémie normaux.

Pour notre part, nous avons dosé la calcémie chez deux malades atteintes de ligamentite postérieure en rapport avec une infection colibacillaire. Les dosages ont donné des chiffres compris entre 92 et 100 mg., donc normaux.

Dans un cas de syndrôme rhumatismal douloureux par malformation (vertébrale plate) nous trouvons une calcémie à 102 mg.

Dans un cas de d'épiphysite douloureuse de l'adolescent, affection bien étudiée par **Sorrel et Delahaye** (207) nous avons trouvé la calcémie à 88 et 89 mg.

Il semble donc bien que dans les formes non ankylosantes du rhumatisme chronique, quelque soit leur étiologie (malformations congénitales, toxémies, ou purement humorale) la calcémie reste normale ou ne subit que de faibles et passagères variations ne pouvant guider ni le diagnostic ni le traitement.

Polyarthrites ankylosantes. — Mais la question de l'étiologie et du traitement des formes ankylosantes polyarthritiques du rhumatisme chronique a été l'objet d'innombrables travaux au cours de ces dernières années. Nous ne ferons qu'en rappeler brièvement les principaux.

C'est en 1926 que **Oppel,** constatant une hypercalcémie chez un certain nombre de malades atteints de polyarthrites ankylosantes, attribua un rôle à l'hyperparathyroïdie dans cette affection et proposa l'ablation thérapeutique d'une partie du tissu parathyroïdien.

Oppel trouve une hypercalcémie dans les deux tiers des cas de polyarthrites ankylosantes et il établit un rapprochement entre les polyarthrites avec hypercalcémie et la maladie de Recklinghausen dans laquelle l'adénomectomie parathyroïdienne avait donné à **Mandl** de remarquables succès.

En 1935 **Federoff** (212) publie 121 cas traités ainsi dans la clinique **Oppel.** Il trouve 39 améliorations permanentes sur 84 malades revus de 3 à 7 ans après intervention, et ces cas correspondraient aux malades ayant, avant intervention, les calcémies les plus élevées (moyenne 116 mg.).

Cette technique est introduite en France par **Leriche** (241) ; avec **Jung** (229) il en précise les indications :

1° Seules les arthrites ankylosantes sont justiciables de la parathyroïdectomie.

2° Les arthrites multiples ankylosantes d'origine franchement infectieuse doivent à leur tour être éliminées du cadre des cas susceptibles d'être traités par la parathyroïdectomie.

Dans les cas avec hypercalcémie la parathyroïdectomie ramène la calcémie à la normale.

Dans les cas avec calcémie normale celle-ci ne varie pas à la suite de l'intervention.

Au point de vue clinique, sur 86 cas opérés en France en 1933, **Jung** note 25 pour cent d'améliorations se maintenant au delà du sixième mois.

Mais l'interprétation de ces faits est très discutée.

Au point de vue opératoire, on trouve, dans les cas suivis d'amélioration opérés par **Oppel,** dix cas sur trente-cinq dans lesquels cette amélioration survient sans qu'une parathyroïde ait été enlevée, cette constatation ayant été faite par l'examen histologique des pièces effectué par **Scamarin. Hergen** attribue l'action favorable de l'intervention au fait qu'elle comporte la ligature de l'artère thyroïdienne inférieure, cette ligature provoquant l'anémie des parathyroïdes et une diminution de leur fonctionnement. **Leriche** effectue cette simple ligature dans un certain nombre de cas.

Au point de vue clinique l'existence d'une hypercalcémie dans les polyarthrites ankylosantes est très discutée.

Simon (280) trouve une calcémie à 110 mg chez un malade sur sept, la calcémie étant normale chez trois d'entr'eux et basse chez les trois autres.

Mathieu, Pierre Weil (286) met en doute les fortes hypercalcémies signalées par certains auteurs et constate qu'il n'observe plus d'hypercalcémie dans les polyarthrites depuis que ses dosages sont effectués avec une technique plus rigoureuse (technique de **Ch. O. Guillaumin**).

Coste, Grigaut et Charmant (197) ne trouvent pas d'hypercalcémie dans une trentaine de cas de polyarthrites ankylosantes et le bilan calcique effectué dans six de ces cas ne leur montre aucune anomalie.

Mallet Guy et Welti (255) ne notent aucun rapport entre les résultats thérapeutiques des parathyroïdectomies et le chiffre de la calcémie, les insuccès s'observant aussi bien dans les cas à calcémie légèrement élevée que dans les cas à calcémie basse.

Langeron et Geneau (254) dans seize cas opérés dont onze avec succès n'ont trouvé que des calcémies normales ou sub-normales avant l'intervention, et notent seulement le plus souvent une légère baisse post-

opératoire ; mais nous savons que tout acte opératoire entraîne cette légère hypocalcémie.

Bérard, Thiers et **Henry** (178) concluent également qu'on ne peut tirer aucune conclusion opératoire du taux de la calcémie.

Coryn (193) trouve dans presque tous les cas de polyarthrite une calcémie normale ou sub-normale, mais n'observe jamais la coexistence d'une hypercalcémie et d'une hypophosphatémie sans laquelle il est interdit de parler d'hyperparathyroïdie. Il note également que la polyarthrite ne s'observe jamais dans l'hyperparathyroïdie clinique et expérimentale.

Pour notre part nous avons dosé la calcémie chez onze malades atteints de polyarthrite ankylosante avant parathyroïdectomie. Tous les chiffres que nous avons trouvés étaient normaux ou très voisins de la normale, compris entre 90 et 115 mg et le plus habituellement entre 100 et 105 mg.

Les résultats thérapeutiques obtenus par parathyroïdectomie chez ces malades ont été très variables.

Dans un cas où l'on a observé une amélioration très importante, persistant après plusieurs mois, l'examen de la pièce opératoire a montré l'absence d'ablation de tissu parathyroïdien.

Chez les autres malades on a noté des améliorations plus ou moins marquées. Certaines très légères et très passagères.

Un dosage effectué chez l'un de ces malades, après parathyroïdectomie, nous donne un chiffre de calcémie légèrement abaissée à 81 mg.

Il nous semble donc que :

1° — Si l'hypercalcémie peut être observée dans les polyarthrites ankylosantes, cette hypercalcémie n'est pas constante et semble d'autant moins fréquemment observée que les dosages sont effectués avec une technique plus précise.

2° — Le chiffre de la calcémie avant intervention ne peut apporter aucun argument en faveur de l'indication opératoire, les résultats cliniques étant sans rapport avec ce chiffre.

3° — La calcémie baisse le plus souvent après intervention sur les parathyroïdes, mais cette baisse est

à peine plus marquée que dans toute intervention non parathyroïdienne et est sans rapport avec les résultats cliniques.

4° — Des améliorations importantes ont été observées ; mais elles sont sans relations avec les modifications de la calcémie et sont parfois observées sans qu'il y ait eu ablation de tissu parathyroïdien.

La parathyroïdectomie est donc une intervention qu'il est logique de pratiquer chez ces malades qu'aucune autre thérapeutique n'a réussi jusqu'à présent à améliorer ; mais le dosage de la calcémie ne permet pas de poser l'indication opératoire et n'apporte aucun argument en faveur de la nature parathyroïdienne de la polyarthrite ankylosante. **Mouriquaud** (266), **Chifoliau** et **Braine** (184), **Mario Donati** (208), **Weissenbach** (290) confirment également que l'on ne peut affirmer de façon sûre l'existence d'une hyperparathyroïdie dans les polyarthrites ankylosantes. Certains de ces auteurs ont d'ailleurs obtenu quelques bons résultats avec un traitement par l'hormone parathyroïdienne.

CHAPITRE V

OSTEOPATHIES PAR ALTERATIONS DU TISSU OSSEUX

Ces ostéopathies, dans lesquelles les troubles de la calcification ne sont que légers et secondaires, sont caractérisées par une altération du tissu osseux présentant des anomalies, soit par insuffisance quantitative ou qualitative de la substance osseuse, soit par altération pathologique d'un des éléments du tissu osseux.

Nous adopterons pour ce chapitre une classification histologique ne pouvant adopter comme précédemment une classification étiologique. En effet, les facteurs étiologiques de la plupart de ces ostéopathies sont mal connus.

I. — Par altération de la substance osseuse.

Maladie de Lobstein. — L'ostéopathyrose décrite par **Lobstein** est une fragilité osseuse essentielle affectant le squelette entier.

Cette affection familiale et héréditaire (**Levent** 250) se manifeste habituellement dès l'enfance, se traduisant par de la laxité articulaire et la fréquence des luxations, entorses et fractures.

Ces fractures s'accompagnent de symptômes peu marqués et se consolident rapidement sans déformations ni pseudarthroses.

On note enfin de façon constante la couleur bleue ardoisée des sclérotiques et la fréquence des troubles auditifs.

L'étiologie de cette affection n'est pas connue. Le processus d'ossification y est normal et la calcification est également normale. On observe seulement une insuffisance de la substance fondamentale préosseuse, **Reboul** et **Racine** (274) notent par artériographie une

hypervascularisation particulièrement intense au niveau des régions osseuses les plus décalcifiées.

La calcémie est habituellement normale ou basse dans la maladie de **Lobstein.** Cependant **R. Clément** (185) rapporte trois observations avec légère hypercalcémie. **Mathieu, Verain, Martin** et **Herbeuval** (259) trouvent chez deux sœurs une calcémie à 120 mg. **Cronental** (200) trouve chez le père et le fils la calcémie à 120 mg.

Dans deux cas observés par nous la calcémie était normale, chez l'un d'eux, 95 mg et assez nettement augmentée chez l'autre, 118 à 120 mg.

La dysplasie périostale de Porak et Durante décrite antérieurement par **Vröluk** sous le nom d'ostéogenesis imperfecta se traduit par une fragilité osseuse congénitale et la coloration bleue ardoisée des sclérotiques. Mais, contrairement à ce que l'on observe dans dans la maladie de **Lobstein,** cette affection se développe in utéro et n'est pas héréditaire. Elle s'accompagne de nanisme avec micromélie. Ces enfants survivent rarement au delà de deux ou trois mois.

Nous n'avons trouvé aucune publication comportant un chiffre de calcémie.

2. — Maladie de la Chondrogénèse.

Exotoses ostéogéniques multiples. — Elles sont caractérisées par des tumeurs dures, adhérentes à l'os, plus ou moins pédiculées et généralement indolores. Elles surviennent chez l'enfant pendant la croissance et leur évolution s'arrête vers la fin de l'adolescence, la croissance achevée.

Au point de vue étiologique le rôle des glandes endocrines, thyroïde, hypophyse, glandes génitales a été envisagé par divers auteurs et en particulier par **Leriche** et **Policard.** Le thymus aurait pu jouer un rôle étiologique dans un cas de **Ledoux** et **Cottet** (237).

La calcémie est normale dans cette affection d'après **Jung** (229).

Pour notre part, dans un cas observé par nous, la calcémie était à 90 mg.

Dyschondroplasie d'Ollier. Affection débutant dans la première enfance atteignant surtout les filles.

Les lésions du squelette sont multiples, consti-

tuées par des déformations et un raccourcissement des os longs des membres et des petits os des extrémités.

Il semble que cette dystrophie osseuse soit congénitale.

Dans un cas publié par **Rœderer** et **Froyez** (275) nous avons dosé la calcémie et l'avons trouvée normale.

3. — Maladies des éléments rétilo-endothélieux.

Maladie de Schuller Christian. Cette xanthomatose cranio-hypophysaire se traduit par des troubles endocriniens à prédominance hypophysaire et par une ostéoporose à prédominance cranienne.

Elle atteint surtout les enfants, plus spécialement les garçons.

Poumailloux (271) fait de cette affection une lipoïdose cholestérinique : l hyperlipidémie et l'hypercholestérolémie sont constantes. La monocytose traduit l'hyperactivité réticulo-endothéliale.

Dans un cas de xanthomatose osseuse généralisée publiée par **Sheling** et **Voshell** (278) la calcémie, la phosphatémie et la phosphatasémie étaient normales.

Dans diverses autres affections du système réticulo-endothélial on peut observer des troubles osseux : ostéoporose discrète généralisée dans la *maladie de Niemann-Pick*, décalcification étendue avec aspect réticulé du tissu spongieux dans la *maladie de Gaucher*.

Des formes osseuses ont été décrites dans la *maladie de Hodgkin* et dans la *maladie de Besnier-Bœck-Schaumann*.

Nous n'avons pas trouvé dans la littérature de chiffres anormaux de la séro-calcémie.

CHAPITRE IV

B. — AFFECTIONS OSSEUSES LOCALISEES

Les causes des affections osseuses localisées sont multiples : traumatismes, infection, rhumatisme. cancer en sont les principales.

I. — Lésions traumatiques.

Fractures. — **Leriche** et **Policard, Crétin,** ont étudié la formation du cal dans les fractures. Nous donnons les principaux points de l'étude consacrée à ce sujet par **Simon** (279).

La fracture osseuse s'accompagne dans les premières heures d'un épanchement sanguin et d'une vaso-dilatation due aux lésions des ramifications du sympathique osseux.

Entre le troisième et le sixième jour, le caillot est envahi par le tissu conjonctif. Il y a dans cette étape conjonctive : destruction du caillot, formation entre les extrémités fracturées d'un réseau conjonctif, et mise en réserve des sels minéraux libérés.

Dans les jours suivants le cal augmente de volume, les cellules conjonctives se chargent de plus en plus de sels minéraux, la substance fondamentale de l'os ancien se déminéralise.

L'ossification du cal se déclanche ensuite dès que le tissu interfragmentaire est devenu capable de fixer les sels de calcium, ce tissu, en effet, a subi une congestion capillaire, et ses fibroplastes prennent peu à peu le type d'ostéoblastes. On pense que la majeure partie des sels minéraux est trouvée sur place. Cependant le calcium sérique peut jouer un rôle.

Morel a montré que la parathyroïdectomie empêche la calcification du cal. **Gussarov** constate pendant toute la durée de la calcification une élévation de la calcémie semblant bien due à la mobilisation des ré-

serves calciques de l'organisme. **Imbert** (226) au contraire, note dans l'ensemble des cas une hypocalcémie ; ce n'est que dans les retards de consolidation qu'il trouve une hypercalcémie qui se trouve brusquement ramenée à la normale lors de l'apparition des premiers signes cliniques ou radiologiques de consolidation. Ces chiffres donnés par **Imbert** nous semblent plus vraisemblables, toute calcification normale utilisant le calcium devant s'accompagner d'une calcémie basse, alors que l'ostéolyse des fragments voisins de la fracture, non suivie d'une calcification du cal, doit s'accompagner d'une élévation de la calcémie.

Nous n'avons à ce sujet qu'une seule observation; il s'agit d'une fracture non consolidée au troisième mois. La calcémie était à 105 mg, soit au voisinage de la limite supérieure de la normale.

Ostéoroporoses traumatiques — Le traumatisme peut, en l'absence de toute fracture, provoquer une ostéopore assez étendue de l'os tramatisé. Cette ostéoporose est surtout fréquente lors des accidents du pied ou de la main. L'ostéoporose atteint les os du tarse ou du carpe et remonte le long des os voisins Cliniquement elle se traduit seulement par une douleur diffuse ; mais on observe des troubles vaso-moteurs prononcés : cyanose, refroidissement des extrémités et souvent de l'œdême. On constate au tensiographe une diminution de l'amplitude des oscillations. **Leriche** (242) traite ces cas par sympathectomie ou par anesthésie du sympathique ganglionaire.

Nous n'avons pas trouvé mention de variations de la séro-calcémie dans ces cas.

II. — Lésions infectieuses.

L'infection atteignant les tissus mous peut provoquer, tout comme les traumatismes, une ostéoporose des os voisins. Cette ostéoporose est due aux troubles vaso-moteurs provoqués par l'infection ; elle n'entraîne pas de modifications appréciables de la séro-calcémie.

Plus intéressante est la recherche de la calcémie dans les ostéites, infection atteignant l'os lui-même. Dans les ostéites, en effet, la libération du calcium est due, d'une part, à la destruction osseuse par l'ostéite,

et, d'autre part, à la décalcification de l'os au voisinage de la lésion.

De nombreux microbes (staphylocoque, streptocoque, colibacille, pneumocoque, bacille d'Eberth, bacille de Koch) ou leurs toxines, des protozoaires (tréponèse) ou des champignons (actinomycose, sporotrichose) peuvent être à l'origine de ces ostéites. De même, certains produits chimiques (phosphore, mercure) peuvent provoquer une nécrose du tissu osseux.

L'infection atteint la moelle osseuse. Si l'infection est massive on observe de la nécrose osseuse ; si l'infection est plus modérée elle provoquera un processus d'ostéite raréfiante auquel pourra s'ajouter un processus d'ostéite condensante. Le processus de raréfaction est provoqué par l'hyperhémie avec prolifération médullaire. Il en résulte une libération des sels minéraux de l'os.

L'ostéite condensante produite par réaction s'opère par calcification des éléments médullaires pouvant, si ce processus est intense, aboutir à la formation d'un os très dense analogue à l'ivoire.

a) *Ostéomyélites.* — L'ostéomyélite est une lésion infectieuse de l'os survenant surtout chez les sujets jeunes, atteignant ordinairement la région juxta-épiphysaire de l'os ; la nécrose du tissu osseux avec production de séquestres est habituelle. Une gaine d'os nouveau d'origine périostique se fait habituellement autour de ce séquestre.

Ce double travail de destruction et de raréfaction osseuse, libérant du calcium qui est utilisé pour la formation d'os nouveau, ne semble pas devoir produire de modifications importantes de la séro-calcémie.

Dans deux cas d'ostéomyélite nous avons trouvé la calcémie normale et nous n'avons pas trouvé dans la littérature de chiffres de calcémie modifiés de façon notable.

b) *Tuberculose osseuse.* — La tuberculose osseuse est une ostéite chronique, caséeuse, produite par le bacille de Koch. La partie périphérique de la lésion est hyperhémiée, il se produit une résorption des sels minéraux des trabécules osseux.

Cette hyperhémie qui semble la cause principale de la plupart des décalcifications a été mise en évi-

dence dans les tuberculoses osseuses par **Dos Santos** et confirmée par artériophagie par **Reboul** et **Racine** (274).

Les parties de l'os voisines de la lésion sont atteintes d'ostéoporose, et cet appauvrissement de l'os en sels minéraux s'étend parfois sur la totalité de l'os et même sur les os voisins.

A côté de ce travail de destruction osseuse se produit un travail de condensation ; mais ce n'est généralement que lorsque la lésion évolue vers la guérison, de dix-huit mois à deux ans habituellement après le début de l'affection, que l'on peut constater une densification osseuse tendant à circonscrire la lésion.

A la radiographie on constate :

Au début, une décalcification accompagnant les troubles trophiques et l'allongement atrophique du membre.

A la période d'état, la décalcification intense au niveau de la lésion, formant une tache claire nettement visible à la radiographie, et la décalcification générale plus marquée de l'os atteint mais pouvant s'étendre à une grande partie du squelette.

On voit ensuite se former un séquestre au centre d'une zone intermédiaire bordée d'une coque périphérique apparaissant à la radiographie sous forme d'un liseré dense et riche en sels calcaires (liseré de deuil de **Menard**).

Après traitement et arrêt de l'infection on constate le retour progressif à une calcification normale.

Mais la calcémie n'est que peu modifiée par ces processus lents de décalcification et de récalcification.

Nous avons dosé la séro-calcémie chez 29 malades tuberculeux osseux présentant des lésions évolutives étendues (15 maux de Pott, 12 coxalgies, 2 tumeurs blanches du genou). Chez 5 d'entr'eux la calcémie était comprise en 94 et 100 mg. Chez les 24 autres la calcémie oscillait entre 101 et 113 mg. Tous ces chiffres sont normaux ou très voisins de la normale. Cependant nous remarquons qu'en aucun cas nous n'avons trouvé de chiffres au-dessous de 94 mg, alors que dans 7 cas (soit 26 p. 100) nous avons trouvé des chiffres supérieurs à 100 mg, limite supérieure de la normale d'après notre méthode de dosage.

Nous avons vu que la moyenne des dosages effec-

tués sur les sujets normaux était de 97,5 mg ; la moyenne des dosages effectués chez les tuberculeux osseux en évolution est de 102,5, soit une légère hypercalcémie moyenne de 5 mg par litre.

Ces variations sont évidemment trop faibles pour pouvoir être utiles au diagnostic ou pour permettre de suivre l'évolution de l'affection. Elle nous montre simplement qu'un processus lent de décalcification se traduit bien, comme on pouvait le prévoir, par une légère élévation de la calcémie. Mais l'élimination rénale ou fécale du calcium ainsi mobilisé est suffisante pour que si la décalcification n'est pas rapide et massive, la calcémie ne soit que faiblement augmentée.

Ultérieurement, lorsque la maladie évolue vers la guérison, le processus de décalcification s'arrête et celui de récalcification s'intensifie, la calcémie baisse alors légèrement pour revenir dans les limites normales.

En ce qui concerne l'élimination du calcium ainsi mobilisé, il nous semble que l'élimination rénale soit primordiale. Le calcium est une substance à seuil, et toute hypercalcémie entraîne une hypersécrétion rénale du calcium tendant à ramener la calcémie à la normale aussi rapidement que le permet le pouvoir de concentration du rein. Lorsque le calcium est libéré en faible quantité, son élimination est assurée sans que la calcémie augmente de façon mesurable.

Le rôle primordial de l'élimination rénale est d'ailleurs confirmé par la fréquence des accidents de lithiase rénale observée au cours de toutes les ostéites.

Mondot les signale au cours d'arthrites gonococciques. **Herbert** (225) les observe au cours d'ostéomyélites. **Roux** (276) les étudie au cours des diverses décalcifications osseuses.

En tuberculose osseuse, l'hypercalciurie et l'hyperphosphaturie ont été notées depuis longtemps, et les accidents de lithiase rénale sont fréquents (**Tschudnowsky,** 283).

Si d'autres facteurs, et en particulier la stase urinaire et l'alcalose sont constamment observées dans ces lithiases, il n'en reste pas moins certain que ces lithiases ne s'observent jamais en l'absence d'hypercalciurie.

III. — Affections rhumatismales.

Les monoarthrites peuvent être dues aux causes les plus diverses.

Le pseudo-rhumatisme infectieux, les traumatismes, les troubles trophiques et les troubles nerveux peuvent donner des formes localisées monoarthritiques.

Comme dans les polyarthrites on observe des troubles de calcification de l'os voisin et on y retrouve le double processus d'ostéite raréfiante et d'ostéite condensante conduisant fréquemment à l'ankylose.

Les troubles circulatoires semblent, dans ces formes, jouer un rôle primordial. C'est à une modification circulatoire que **Graber-Duvernay** (219) attribue l'action souvent bienfaisante du forage de l'épiphyse dans le traitement de l'arthrite chronique de la hanche.

Ce double processus d'ostéite raréfiante et condensante, limité à une seule articulation, n'entraîne pas de variations de la séro-calcémie.

Dans quatre cas de mono-arthrites ankylosantes d'origine gonococcique ou rhumatismale, nous avons trouvé la calcémie comprise entre 92 et 99 mg, c'est-à-dire normale.

IV. — Tumeurs osseuses.

a) *Kystes essentiels des os.* — Ces tumeurs bénignes survenant chez l'adolescent siègent surtout sur les os longs des membres dans la région du bulbe de l'os et le plus fréquemment au niveau de l'épiphyse la plus fertile. Le kyste est unique.

Le métabolisme du calcium ne semble pas troublé par cette lésion osseuse unique et peu évolutive. Dans un cas observé par nous chez un enfant présentant un kyste avec fracture au voisinage de la tête humérale, la calcémie, mesurée à trois reprises, nous a donné des chiffres compris entre 97 et 104 mg.

b) *Ostéosarcomes.* — Ces tumeurs siègent plus spécialement à l'extrémité inférieure du fémur et à l'extrémité supérieure du tibia, elles peuvent atteindre un volume considérable.

La prolifération néoplasique se fait aux dépens de la moelle osseuse par prolifération des éléments du

tissu conjonctif, le sarcome fuso-cellulaire étant la forme histologique la plus fréquente.

L'os est détruit par le développement du sarcome et les minéraux de l'os mis en liberté. L'évolution de l'ostéosarcome étant rapide, la libération du calcium est importante ; aussi nous trouvons de façon constante une hypercalcémie généralement marquée.

De nombreux chiffres de calcémie ont été publiés ; le plus habituellement la calcémie est de 140 à 160 mg. Dans un cas d'ostéosarcome du grand trochanter nous avons trouvé la calcémie à 149 et 153 mg.

La libération du calcium par destruction osseuse nous semble bien la seule cause de cette hypercalcémie. En effet, chez un malade atteint d'un ostéosarcome de l'extrémité supérieure du tibia, la calcémie, qui était voisine de 150 mg avant l'intervention, était redescendue à 91 mg, trois jours après l'amputation de la cuisse.

Nous n'avons pas observé de sarcomes à myéloplaxes et n'avons pas eu connaissance de chiffres de calcémie dans ces formes habituellement bénignes.

CONCLUSIONS

Les variations de la teneur des produits biologiques en calcium étant faibles, il est nécessaire de pouvoir effectuer le dosage de ce corps avec une grande précision.

De très nombreuses méthodes de dosage du calcium ont été préconisées. Leur valeur est très inégale.

En macrodosage. — Les méthodes par pesée du calcium à l'état de SO^4Ca ou à l'état de CaO après isolement à l'état d'oxalate, donnent toute satisfaction.

Les méthodes volumétriques avec terminaison du dosage par alcalimétrie ou par manganimétrie à chaud ou à froid donnent également de bons résultats.

En microdosage. — L'étude critique de diverses micro-méthodes proposées pour le micro-dosage du calcium nous a montré que :

La terminaison du dosage par iodométrie est la meilleure.

Seule l'iodométrie permet d'effectuer le dosage terminal en solution N/100, avec une approximation de 0,5 p. 100. Il suffit que la concentration du milieu en iodure de potassium soit supérieure à 1 p. 100.

Le dosage du permanganate de potassium en solution N/100 par iodométrie est exact à 0,5 p. 100 près, à condition d'opérer en milieu sulfurique faible.

Le dosage de l'ion oxalique par le permanganate à chaud n'offre pas une précision suffisante en microdosage.

Le dosage de l'ion oxalique par le permanganate à froid avec terminaison par iodométrie donne des chiffres exacts à 1 p. 100 près, à condition de laisser à l'oxydation le temps de s'achever (10 minutes en l'absence de SO^4Mn, 2 minutes en présence de SO^4Mn)

à la température du laboratoire et d'opérer en milieu suffisamment acide (1 p. 100 environ de SO_4H_2).

En présence de sels minéraux à une certaine concentration le dosage est entaché d'erreurs par défaut, si l'on opère en l'absence de SO_4Mn.

En présence de SO_4Mn les sels étrangers, même à forte concentration, conduisent à des erreurs par défaut ne dépassant pas 3 p. 100.

Les sels minéraux introduits en quantité égale à celle contenue dans le sérum sanguin n'amènent aucune perturbation dans les dosages oxalimétriques qui, dans ces conditions, sont exacts à 1 p. 100 près.

Une solution M/400 d'acétate de calcium a été dosée suivant la technique de **Velluz** et **Deschaseaux** en adoptant les modifications préconisées par **Cheymol.**

Nous avons trouvé que le nombre des lavages du précipité d'oxalate pouvait être réduit à 3 : (1 à l'alcool-éther-eau, 1 à l'alcool-éther, 1 à l'éther).

Le microdosage du calcium effectué sur 2 cm3 solution M/400 est exact à 2 p. 100 près.

Nous avons trouvé que l'on pouvait également précipiter le calcium contenu dans 2 cm3 d'une solution d'acétate de calcium M/400 par un excès connu, soit : 2 cm3 d'une solution d'oxalate N/50, et doser l'oxalate restant dans la solution après séparation du précipité par centrifugation ou filtration sur filtre poreux d'Iéna G.4.

La précision de ce dosage est également de $\pm$ 2 p. 100.

Les conditions optima de concentration des divers réactifs sont les suivantes :

a) La concentration en calcium doit être supérieure à 1 p. 100.000.

b) La concentration en oxalate doit être supérieure à N/200, et l'excès d'oxalate par rapport au calcium doit être compris entre 1,25 et 4.

Dans ces conditions la précipitation du calcium est complète en 1 heure, et le faible excès d'oxalate rend facile le lavage du précipité ou le dosage de l'oxalate en excès, suivant la technique adoptée pour la terminaison du dosage.

Les sels minéraux présents à forte concentration dans le milieu où se fait la précipitation du calcium retardent ou même empêchent cette précipitation.

Par contre, à la concentration où les sels minéraux existent dans le sérum sanguin, ceux-ci ne troublent nullement la précipitation du calcium.

Le magnésium, à la dose où on le rencontre dans les tissus et humeurs de l'organisme, n'entraîne aucune perturbation dans le dosage du calcium, si l'on ne dépasse pas l'excès d'oxalate indiqué.

Parmi les différents procédés proposés pour la destruction des matières organiques, seule la calcination nous semble permettre un dosage rigoureux du calcium ; on la pratiquera, soit en capsules de platine ; soit, si les matières organiques ne sont pas trop abondantes, en capsules de porcelaine ou de quartz en accélérant la calcination à l'aide d'acide trichloracétique et de nitrate d'ammonium.

La destruction nitroperchlorique en effet ne permet la précipitation totale du calcium que par l'emploi d'un fort excès d'oxalate, cause d'erreurs dans la poursuite du dosage.

Tous les microdosages effectués sur une solution titrée d'acétate de Ca M/400, après évaporation, calcination et titrage dans les conditions indiquées plus haut, nous ont toujours donné des résultats exacts à $\pm$ 3 p. 100 près.

Ayant ainsi étudié le dosage du calcium sur solutions titrées, nous avons comparé les diverses méthodes proposées pour le dosage de la séro-calcémie.

Les micro-méthodes colorimétriques donnent des résultats beaucoup trop imprécis pour le but poursuivi.

Les micro-méthodes néphélémétriques donnent de très mauvais résultats.

Nous n'avons pu expérimenter les micro-méthodes pondérales.

Les micro-méthodes à l'oxalate, avec terminaison par alcalimétrie, nous donnent une précision nettement inférieure à celle donnée par la terminaison iodométrique du dosage.

La destruction de la matière organique des produits biologiques est indispensable. La précipitation

directe du calcium au sein du sérum est en effet sujette à des erreurs importantes.

La précipitation du calcium dans le filtrat du sérum désalbuminé par l'acide trichloracétique est également sujette à des erreurs.

Seule la calcination en capsules de platine, de porcelaine ou de quartz nous a donné satisfaction.

L'addition d'acide trichloracétique au sérum sanguin en facilite la dessication et la calcination.

La méthode qui s'est montrée la plus précise et la plus spécifique est la méthode de **Velluz** et **Deschasseaux** à laquelle **Cheymol** puis nous-même avons apporté quelques modifications.

Nous donnons page 75 les détails de la technique que nous avons finalement adoptée et que nous avons utilisée pour les dosages de séro-calcémie dans les affections osseuses, faisant l'objet de la dernière partie de notre travail.

Notre *micro-méthode par retour* est difficilement applicable au dosage du calcium dans les cendres de produits biologiques calcinés en capsules de platine, la présence d'iodure de platine lors du dosage iodométrique terminal gênant la lecture du virage.

Par contre, la calcination en capsules de porcelaine ou de quartz et en présence de nitrate d'ammonium, de produits biologiques n'ayant pas une teneur par trop élevée en substances organiques est facile et rapide et permet l'emploi de notre micro-méthode par retour.

Elle convient très bien au dosage du calcium dans le liquide de défécation du sérum sanguin par l'acide trichloracétique : il suffit de porter les capsules à une température inférieure à celle du rouge sombre (au rouge les cendres peuvent s'incorporer partiellement à la capsule) pendant 3 à 4 minutes (temps nécessaire pour assurer la volatilisation totale de l'acide trichloracétique et du nitrate d'ammonium).

Cette méthode nous donne le chiffre de la séro-calcémie réelle à condition d'apporter aux résultats obtenus une correction de — 4,5 p. 100 correspondant à la concentration en calcium subie par le liquide de déféquation trichloracétique par suite du fait que le précipité des albumines sériques ne contient pratique-

ment pas de calcium et représente de 4,0 à 4,5 p. 100 du volume du déféquat.

Ainsi corrigés les chiffres de calcémie obtenus par cette méthode sont d'une précision égale à ceux obtenus par la méthode de Cheymol, les erreurs ne dépassant pas $\pm$ 3 p. 100.

LA CALCEMIE DANS LES AFFECTIONS OSSEUSES

1° — Affections endocriniennes du squelette.

A. — *Hypophyse.* Le lobe antérieur de l'hypophyse semble être en cause dans la mobilisation calcique observée pendant les premières semaines de la grossesse ; mais la calcémie est alors normale.

Dans la maladie de **Cushing,** dans l'acromégalie, dans le nanisme et le gigantisme hypophysaire, les troubles osseux, provoqués par hyper ou hypofonctionnement hypophysaire, portent sur la prolifération du cartilage de conjugaison ; les troubles de la calcification sont peu marqués et la calcémie reste dans les limites normales

B. — *Glandes génitales.* L'hyperfonctionnement des glandes génitales hâte l'apparition des noyaux d'ossification ; l'hyperfonctionnement de ces glandes retarde cette apparition des noyaux. Les troubles de la calcification sont peu marqués et la calcémie reste habituellement dans les limites normales à l'exception de quelques cas de castration ou de rhumatisme ovarien où une hypocalcémie aurait été observée.

C. — *Thyroïde.* L'hyperfonctionnement de la thyroïde provoque une soudure prématurée des cartilages de conjugaison et l'hypofonctionnement thyroïdien retarde l'apparition des noyaux de calcification.

Dans les arthrites que l'on peut attribuer à l'hypothyroïdie la calcémie reste normale. De même dans les ostéoporoses semblant liées à une hyperthyroïdie, la calcémie reste normale.

D. — *Thymus. — Rate. — Surrénales.* Un dysfonctionnement de ces glandes n'entraîne pas de modification de la calcémie et ne semble pas être cause d'affections osseuses.

E. — *Parathyroïdes.* Les parathyroïdes, par contre, ont une action élective sur la calcification du squelette.

Il ne semble pas exister d'affections osseuses cliniquement caractérisées, liées à une hypoparathyroï-

die ; et, d'autre part, l'hypoparathyroïdie avec chûte de la calcémie ne s'observe expérimentalement que lorsque la totalité du tissu parathyroïdien a été enlevée ou inhibée.

Les hyperparathyroïdies au contraire provoquent une hypercalcémie marquée et les lésions osseuses caractéristiques de la maladie de **Recklinghausen** ou de ses formes frustes groupées par Lièvre sous le nom d'ostéose parathyroïdienne.

Toute affection endocrinienne du squelette avec hypercalcémie est liée à une hyperparathyroïdie et doit inciter à rechercher la présence d'un adénome parathyroïdien qui devra être extirpé.

II° - Affections généralisées du squelette liées à des troubles de la nutrition.

Dans les *ostéopathies de famine* qui sont des ostéopathies par carence de l'apport calcique, on trouve une calcémie basse ou de l'hypocalcémie.

Dans *l'ostéomalacie* qui est provoquée par un apport de calcium insuffisant par rapport à des besoins accrus et à une insuffisance de la fixation du calcium par carence en vitamine D, l'hypocalcémie est habituelle.

Dans le *rachitisme* dont la carence en vitamine D, causée habituellement par des troubles gastro-intestinaux, demeure la cause principale, la calcémie est normale, mais il y a parfois de l'hypocalcémie.

Dans la *maladie de Gee* et de *Sprue nostras*, on peut observer des troubles osseux et l'hypocalcémie est habituelle.

Dans ces diverses affections, le traitement par le calcium et la vitamine D est suivi d'une récalcification osseuse et d'une élévation de la calcémie.

Le rôle des parathyroïdes dans ces affections par carence est évident. La calcémie baissant par déficit de l'apport ou de l'assimilation du calcium, les parathyroïdes libèrent le calcium des os pour tenter de maintenir la calcémie ; cette réaction parathyroïdienne n'est donc que secondaire, et une hyperparathyroïdie ne peut être considérée comme étant la cause de ces divers syndrômes osseux. Peut-être toutefois cette hy-

peractivité parathyroïdienne pourrait-elle, après un certain laps de temps, dépasser son but et provoquer alors un syndrôme discret d'hyperparathyroïdie secondaire qui expliquerait les quelques chiffres un peu élevés de calcémie signalés mais qui nous semblent devoir être confirmés.

L'hypocalcémie dans les carences d'apport calcique semble d'ailleurs bien un moyen de défense de l'organisme qui, par l'abaissement du taux du calcium sanguin, peut réduire l'élimination du calcium et en particulier la calciurie et donner ainsi les bilans positifs observés dans les divers syndrômes ostéomalaciques.

Si le système rénal sain peut ainsi concourir à maintenir l'équilibre calcique en restreignant son excrétion calcique en présence d'une hypocalcémie, il peut par contre, s'il est atteint de néphrite chronique voir son seuil d'excrétion calcique baisser, ce qui entraînera une baisse de la calcémie, une décalcification de l'organisme et, par suite, des troubles osseux décrits sous le nom de *syndrôme ostéo-rénal.*

III° — Ostéopathies par destruction osseuse.

Les destructions osseuses importantes observées dans le *cancer généralisé des os* et celles également importantes observées dans les *ostéo-sarcomes* s'accompagnent d'une hypercalcémie importante, résultant de la libération du calcium par suite de la destruction de l'os.

Les parathyroïdes sont parfois hyperplasiées, mais par réaction secondaire ; et on ne peut attribuer à une hyperparathyroïdie l'hypercalcémie observée.

Le fonctionnement du rein est normal, mais le système rénal ne peut éliminer qu'une quantité de calcium limitée en un temps donné et il semble bien exister pour l'élimination rénale du calcium une constante, fonction du temps, de la calcémie et de la calciurie, analogue à celle existant pour la sécrétion uréique. L'élévation de la calcémie sera d'autant plus marquée que la libération de calcium par destruction osseuse est plus rapide et la calcémie revient rapidement à la normale lorsque la destruction osseuse cesse et avec elle la libération massive du calcium.

IV° — Ostéopathies ostéoclasiques avec reconstruction osseuse.

Dans la *maladie de Paget* en particulier et dans diverses autres affections osseuses moins généralisées *leontiasis ossea, maladie de Pierre Marie, méloréostose, ostéopétrose* on observe un processus de raréfaction osseuse par ostéolyse plus ou moins diffuse, associé à un processus de condensation osseuse souvent avec envahissement articulaire. Le calcium libéré par ostéoclasie reste en partie dans les tissus voisins et se précipite en excès à certains points.

La calcémie par suite n'est pas modifiée ou ne l'est que faiblement et passagèrement si l'un des processus vient à dépasser l'autre en intensité, à une période donnée.

Les parathyroïdes ne semblent jouer aucun rôle primordial dans ces affections dont l'étiologie demeure inconnue.

Dans les *rhumatismes chroniques* on observe également ce processus de décalcification osseuse, libérant du calcium qui se précipite dans les articulations. Le rôle des parathyroïdes a été particulièrement invoqué dans les formes polyarthritiques ankylosantes, spécialement dans celles avec hypercalcémie.

Cependant les fortes hypercalcémies signalées au début n'ont pu être confirmées par la suite, et les travaux récents appuyés sur des techniques plus rigoureuses de dosage du calcium montrent que la calcémie est habituellement normale ou reste dans des limites très voisines de la normale.

La parathyroïdectomie pour polyarthrite ankylosante est souvent justifiée par les bons résultats parfois obtenus, alors qu'aucun autre moyen thérapeutique n'est à notre disposition ; mais on ne peut poser l'indication opératoire d'après le chiffre de la calcémie et on ne peut actuellement conclure que les résultats heureux, mais inconstants, obtenus par la parathyroïdectomie soient une preuve de l'origine parathyroïdienne des polyarthrites ankylosantes. Le seul acte opératoire sur la région thyro-parathyroïdienne peut, en effet, amener des perturbations d'ordre vago-sympathique avec modifications circulatoires qui pourraient être à l'origine des améliorations observées.

Il nous semble bien, en effet, que dans les trou-

bles de calcification observées dans les rhumatismes, le facteur vasculaire soit essentiel. La cause première est très souvent difficile à déterminer (micro-traumatismes répétés d'effort ou par malformation congénitale ou acquise, infections, chocs climatiques ou intoxications). Toutes ces causes ont un résultat commun : elles provoquent des troubles circulatoires et en particulier une vaso-dilatation vraisemblablement due à l'irritation du sympathique par le traumatisme ou les toxiques ou toxines.

Or, toute vaso-dilatation entraîne une décalcification de l'os voisin ; le calcium ainsi libéré s'accumule dans les tissus voisins et aura tendance à se précipiter dans les zones les moins irriguées.

Mais cette libération de calcium, lente et souvent discontinue, ne peut modifier que faiblement et passagèrement la calcémie que l'on trouve habituellement normale.

V. — Ostéopathies par altération du tissu osseux.

L'atteinte de la substance osseuse observée dans la *maladie de Lobstein* se traduit par une insuffisance de la substance fondamentale pré-osseuse. La calcémie est souvent normale, quelquefois basse, et parfois augmentée.

Nous n'avons pas eu connaissance de chiffres de calcémie dans la *dysplasie périostale de Porak et Durante*.

Les *exostoses ostéogéniques* multiples, maladie de la chondrogénèse, ne s'accompagnent pas de troubles de la calcification. La calcémie y est normale. De même la calcémie reste normale dans la *dyschondroplasie d'Ollier*.

Dans les diverses lésions osseuses par hyperactivité des éléments du système réticulo-endothélial, *maladie de Schuller Christian*, *maladie de Niemann-Pick*, *maladie de Gaucher*, *maladie de Besnier-Bœck-Schaumann*, les troubles de la calcification sont légers et il ne semble pas que la calcémie soit modifiée.

VI. — Affections osseuses localisées.

Dans les *fractures* on observe une vaso-dilatation d'origine sympathique ou histaminique, libérant une

partie du calcium de l'os ancien, ce calcium restant en réserve dans les cellules conjonctives en vue de la calcification de l'os nouveau. La calcémie n'est que peu modifiée par ces mutations calciques locales. Elle serait plutôt basse lorsque la consolidation se poursuit normalement, et un peu haute dans les retard de consolidation.

Les *traumatismes* peuvent, en l'absence de fractures, provoquer des ostéoporoses dont l'origine sympathique paraît évidente. Nous n'avons pas de chiffres de calcémie dans ces cas.

Dans l'*ostéomyélite* où la nécrose osseuse est accompagnée d'une rapide production d'os nouveau d'origine périostique, la calcémie n'est généralement pas modifiée.

Dans la *tuberculose osseuse* où le processus de réparation est beaucoup plus tardif, on observe durant la période de destruction osseuse une très légère hypercalcémie. Mais cette hypercalcémie n'étant en moyenne que de 5mg environ dans les lésions évolutives étendues, est trop minime pour que le taux de la calcémie puisse donner des indications pronostiques ou thérapeutiques.

La légère hypercalcémie observée est due à la libération du calcium par destruction osseuse, jointe à la décalcification de l'os voisin de la lésion par des troubles vasculaires.

Les parathyroïdes ne semblent jouer aucun rôle dans cette hypercalcémie qui semble due au seul fait que le calcium est libéré en quantité un peu supérieure à celle que le rein peut arriver à éliminer dans un temps donné, bien que l'élimination calcique rénale soit nettement augmentée.

Voyons en résumé quels renseignements peut nous donner le chiffre de la séro-calcémie en présence d'une affection osseuse.

Une hypocalcémie ne sera que rarement de nature endocrinienne : une insuffisance ovarienne pourra parfois être en cause. La *carence calcique* est la cause habituelle des hypocalcémies. La carence par

déficit d'apport (déficit absolu de la ration ou déficit par rapport à des besoins accrus) en est la cause la plus fréquente.

La *carence par défaut de fixation*, par suite d'un déficit en vitamine D, souvent consécutif à des troubles intestinaux, s'accompagne parfois d'hypocalcémie.

Enfin, des troubles osseux avec nanisme ou infantilisme associés à l'hypocalcémie pourraient être *d'origine rénale.*

Une hypercalcémie sera soit :

1° De nature endocrinienne par hyperparathyroïdie. Une forte hypercalcémie étant habituelle dans la *maladie de Recklinghausen.*

Une hypercalcémie plus modérée peut s'observer dans les périodes de rémission de la maladie de Recklinghausen ou dans les formes frustes désignées sous le nom *d'ostéose parathyroïdienne.*

2° Due à une destruction osseuse; les fortes hypercalcémies traduisent un processus de destruction osseuse intense et ne sont observées que dans les *cancers osseux.*

Une hypercalcémie légère peut être observée dans les *ostéites*, lorsque le calcium, libéré en assez grande quantité, ne peut être éliminé assez rapidement.

On pourra encore observer parfois une légère hypercalcémie passagère dans les ostoclasies avec reconstruction osseuse lors des périodes pendant lesquelles le processus d'ostéolyse sera plus actif et dépassera en intensité le processus de reconstruction osseuse .

Mais la **calcémie reste normale** dans de nombreux cas d'affections osseuses dans lesquelles on observe cependant des troubles de la calcification.

Elle est habituellement normale dans les affections ostéoclasiques avec reconstruction osseuse, les mutations calciques restant locales et n'influençant guère la calcémie. Elle est habituellement normale dans les processus de destruction osseuse ou d'ostéoporoses traumatiques localisés dans lesquels la libération du calcium est trop peu importante pour permettre l'accumulation du calcium dans le sang. Elle est habituellement normale dans les affections osseu-

ses caractérisées par des troubles de l'ossification (d'origine glandulaire : hypophyse, thyroïde, ou carentielle : rachitisme) dominants avec troubles de la calcification secondaires et peu intenses.

Elle est également habituellement normale dans les affections atteignant les tissus conjonctifs cartilagineux ou les éléments réticulo-endothéliaux de l'os, et dans lesquels les troubles de la calcification ne sont également que secondaires et peu marqués.

Vu : Le Doyen.

Le Président de Thèse.

Vu et permis d'imprimer :
Le Recteur.

BIBLIOGRAPHIE

1 **Aberhalden** — Zeitsch. f. Biol. 1897, **t. 23**, p. 521.
Zeitsch. f. Biol. 1898, **t. 25**, p. 65

2 **Achard et Ornstein** — C. R. Soc. Biol. 1930, **t. 104**, p. 1217.

3 **Alport** — Biochem. Journ. 1924, **t. 18**, p. 455.

4 **Amberg et Landsbury** — Cité par Guillaumin (64).

5 **Amberg, Landsbury et Sawyer** — Jour. of. Amer. Chem. Soc. 1928, t. 50, p. 2630.

6 **Astruc** — Journ. Pharm. et Chim. 1917, **t. 16**, p. 65.

7 **Astruc et Mousseron** — C.R. Ac Sc. 1930, **t. 190**, p. 376.

8 **Astruc et Mousseron** — C.R. Ac. Sc. 1930, **t. 190**, p. 1558.

9 **Baudouin et Lewin** — Bull. Soc. Chim. Biol. 1927, **t. 9**, p. 280.

10 **Baudoin et Lewin** — C.R. Soc. Biol. 1932, **t. 109**, p. 636.

11 **Baudoin et Lewin** — Bull. Soc. Chim. Biol. 1931, **t. 13**, p. 981.

12 **Baudoin et Lewin** — Bull. Soc. Chim. Biol. 1931, **t. 13**, p. 575.

13 **Baudoin et Lewin** — C.R. Soc. Biol. 1931, **t. 108**, p. 875.

14 **Benedict et Theis** — Journ. of. Biol. Chem. 1924, **t.61**, p. 63.

15 **Bernhard et Beaver** — Journ. of. Biol. Chem. 1926, **t. 69**, p. 113.

16 **Bigwood** — 21è Congrès de Médecine, Liége, 1930, **t. 2**, p. 181

17 **Bigwood et Roost** — Bull. Soc. Chim. Biol. 1931, **t. 13**, p. 1214.

18 **Binet et Blanchetière** — C.R. Soc. Biol. 1931, **t. 93**, p. 511.

19 **Blair Bell** — Brit. Med. Journ. 24 avril 1907.

20 **Boinot** — Thèse Doct. Univ. Pharm. Nancy 1927.

21 **Bougault** — Journ. Pharm. et Chim. 1917, **t. 16**, p. 97.

22 **Bouisson (Mlle)** — Thèse Doct. Univ. Pharm. Montpellier 1931.

23 **Breteau** — Journ. Pharm. et Chim. 1930, **t. 12**, p. 90.

24 **Briggs** — Journ. of. Biol. Chem. 1924, **t. 59**, p. 260.

25 **Brull** — Bull. Soc. Chim. Biol. 1931, **t. 13**, p. 466.

26 **Brull** — 21è Congrès de Médecine, Liége, 1930, **t. 2**, p. 1.

27 **Bull** — Biochem. Zeitsch. 1929, **t. 214**, p. 228.

28 **Bunge** — Zeitsch. für Biol. 1876, **t. 12**, p. 191.

29 **Canals** — Bull. Soc. Chim. Biol. 1918, **t. 23**, p. 422.
Bull. Soc. Chim. Biol. 1919, **t. 25**, p. 90.
Bull. Soc. Chim. Biol. 1921, **t. 29**, p. 152.

30 **Canals et Hortala** — Bull. Soc. Chim. Biol. 1933, **t. 15**, p. 1535.

31 **Carda** — Cité par Guillaumin (64).
32 **Caron et Raquet** — Ann. Chim. Anal. 1919, **t. 27**, p. 205.
33 **Chevallier** — Thèse Doct. Pharm. Paris, 1929.
34 **Crudden** — Journ. of. Biol. Chem. 1911, **t. 10**, p. 187.
35 **Cheymol** — Thèse Doct. Médecine Paris, 1932.
36 **Clark** — Journ. of. Biol. Chem. 1921, **t. 49**, p. 487.
37 **Clark** — Pro. Soc. Exp. Biol. et Méd. New-York, 1919, **t. 17**, p. 136.
38 **Clark et Collip** — Journal of Biol. Chem. 1925, **t. 63**, p. 462.
39 **Congdon, Eddy et Milligan** — Chem. News. 1924, **t. 128** p. 244.
40 **Corley et Denis** — Journ. of Biol. Chem. 1925, **t. 66**, p. 601.
41 **Cristol** — Bull. Sc. Pharmacol. 1922, **t. 29**, p. 79.
42 **Cristol** — Bull. Sc. Méd. Languedoc (cité par Guillaumin) (64).
43 **Deniges** — Cité par Guillaumin (64).
44 **Deniges** — C. R. Soc. Biol. 1921, **t. 84**, p. 875.
45 **Deniges** — Précis de Chimie Analytique, Maloine édit. 1913.
46 **Dobbins et Mébane** — Journ. of Amer. Chem. Soc. 1930, **t. 52**, p. 1469.
47 **Brucker et Cullen** — Journ. of Biol. Chem. 1925, **t. 64**, p. 221.
48 **Dumazert** — Thèse Doct. Univ. Pharm. Marseille, 1936.
49 **Durupt** — Microméthodes et semi-microméthodes. Poinat édit., Paris, 1924.
50 **Dworzark et W. Reich-Rohrwig** — Zeits Ann. Chim. 1931, **t. 71**, p. 98.
51 **Fabre et Détroit** — C. R. Soc. Biol. 1924, **t. 91**, p. 1127.
52 **Fabre** — Bull. Soc. Chim. Biol. 1925, **t. 8**, p. 1168.
53 **Fiske et Subbarov** — Journ. of. Biol. Chem. 1925, **t. 66**, p. 375.
54 **Fleury** — Fiches techniques de Chimie biologique, Ed. Vega, Paris.
55 **Fresenius** — Analyse chimique quantitative. Traduct. Française 1879, Savy, Edit.
56 **Gerlach** — Ber. Sächs. Ges. Wiss. 1872, **t. 24**, p. 349.
57 **Gilles** — C. R. Soc. Biol. Alger 1932, **t. 110**, p. 490.
58 **Goiffon** — C. R. Soc. Biol. 1931, **t. 106**, p. 723.
59 **Grigaut et Ornstein** — C. R. Soc. Biol. 1930, **t. 104**, p. 747.
60 **Grigaut et Ornstein** — Cité par Mazocco (116).
61 **Grimbert et Guiart** — Précis de diagnostic. Lamarre, édit Paris, 1912.
62 **Grimme** — Thèse Doct. Sc. Fribourg 1906.
63 **Groak** — Biochem. Zeits. 1929, **t. 212**, p. 47.
64 **Guillaumin** — Bull. Soc. Chim. Biol. 1932, **t. 14**, p. 85.
65 **Guillaumin** — Journ. Pharm. Chim. 1931, **t. 13**, p. 65.
66 **Guillaumin et Weil** — La calcémie. Rapport au Congrès Français de Médecine, 21e sesion, Liège 1930. Masson Vaillant-Carmann édit.
67 **Guillaumin** .. Bull. Soc. Chim. Biol, 1930, **t. 12**, p. 1269,

68 **Guillaumin** — Bull. Soc. Chim. Biol. 1930, **t. 12,** p. 491.
69 **Guillaumin** — Journ. Méd. Français 1925, **t. 14,** p. 402.
70 **Guillaumin** — Bull. Soc. Chim. Biol. 1927, **t. 9,** p. 247.
71 **Guillaumin et Weil** — Le calcium chez l'homme. Edit. Société Pathologie comparée. Paris 1924.
72 **Hall** — Am. Chem. Soc. 1928, **t. 50,** p. 704.
73 **Halverson et Bergeim** — Proc. Am. Soc. Biol. Chem. Balt. 1916, **t. 22.**
74 **Halverson et Bergeim** — Journ. of Biol. Chem. 1927, **t. 32,** p. 171.
75 **Hamburger** — Zeitsch. Physiol. Chem. 1909, **t. 63,** p. 663.
76 **Hamilton** — Cité par Guillaumin (64).
77 **Hastings, Murray et Sendroy** — Journ. of Biol. Chem. 1924, **t. 61,** p. 723.
78 **Herrit et Bauer** — Journ. of Biol. Chem. 1931, **t. 90,** p. 215.
79 **Hirth et Klotz** — C. R. Soc. Biol. 1923, **t. 88,** p. 1153.
80 **Hirth et Klotz** — C. R. Soc. Biol. 1923, **t. 89,** p. 49.
81 **Hirth** — C. R. Soc. Biol. 1923, **t. 88,** p. 456.
82 **Holt Lamer et Chown** — Journ. of Biol. Chem. 1925, **t. 64,** p. 509.
83 **Jansen** — Zeitsch. für Physiol. Chem. 1918, **t. 101,** p. 176.
84 **Jung** — Congrès de chirurgie 1933, Masson édit. Paris 1933.
85 **Kallauner et Preller** — Cité par Rodt et Kindscher (134).
86 **Kennedy** — Jour. of Biol. Chem. 1927, **t. 74,** p. 389.
87 **Kleinmann** — Biochem. Zeitsch. 1919, **t. 99,** p. 115.
88 **Kirk et Schmidt** — Journ. of Biol. Chem. 1929, **t. 82,** p. 227.
89 **Kleinmann** — Bioch. Zeitsch. 1923, **t. 137,** p. 144.
90 **Klinke** — Ergebn. der Physiol. 1928, **t. 26,** p. 235.
91 **Kolthoff** — Bioch. Zeit. 1927, **t. 185,** p. 344.
92 **Kramer et Tisdall** — Journ. of. Biol. Chem. 121, **t. 47,** p. 223.
93 **Kramer et Tisdall** — Journ. of Biol. Chem. 1921, **t. 47,** p. 475.
94 **Kramer et Tisdall** — Journ. of Biol. Chem. 1921, **t. 48,** p. 2.
95 **Kramer et Howland** — Journ. of Biol. Chem. 1920, **t. 43,** p. 35.
96 **Kriss** — Biochem. Zeitsch. 1925, **t. 158,** p. 203.
97 **Kuttner et Cohen** — Journ. of. Biol. Chem. 1927, **t. »5.** p. 517.
98 **Labbé (M), Labbé (H) et Nepveux** — Techniques de laboratoires appliquées aux maladies de l'appareil digestif et de la nutrition. Maloine édit. Paris 1932.
99 **Labbé (H) et de Toni** — Journ. Pharm. Chim. 1921, **t. 22,** p. 247.
100 **Labbé, Nepveux et Sandor** — 21e Congrès de la Médecine, Liège 1930, **t. 2,** p. 170, Masson, Vaillant-Carmann édit.
101 **Laidlaw et Payne** — Biochem. Journ. 1922, **t. 16,** p. 494.
102 **Lebermann** — Munch. Méd. Woch 1924, N° 40, p. 1392.
103 **Lemarchands** — C. R. Ac. Sc. 1925, **t. 180,** p. 745.
104 **Lematte Boinot et Kahane** — Journ. Pharm. Chim. 1927, **t. 5,** p. 331.

105 **Lemoine** — Cité par Denigès (45).
106 **Lesné, de Gennes et Guillaumin** — C.R. Ac. Sc. 1923, **t. 177.** p. 291.
107 **Lesure et Lavagne** — Journ. Pharm. Chim. 1933, **t. 17,** p. 7 et 49.
108 **Leulier, Velluz et Griffon** — Bull. Soc. Chim. Biol. 1928, **t. 10,** p. 891.
109 **Leulier, Velluz et Griffon** — Bull. Soc. Chim. Biol. 1928, **t. 11,** p. 46.
110 **Ling et Bushill** — Biochem. Journ. 1922, **t. 16,** p. 403.
111 **Luff** — Zeitsch. für Anal. Chem. 1925, **t. 65,** p. 433.
112 **Lyman** — Journ. of Biol. Chem. 1915, **t. 21,** p. 551 et 1927, **t. 29,** p. 169.
113 **Mac Crudden** — Journ. of Biol. Chem. 1910, **t. 7,** p. 83 et 1911, **t. 10,** p. 187.
114 **Mariott, Howland et Haessler** — Journ. Biol. Chem. N. Y. 1917, **t. 32,** p. 233.
115 **Matthews** — Pysiological Chemistry, 4e édit. New-York, 1925.
116 **Mazzocco** — C. R. Soc. Biol. 1921, **t. 85,** p. 689.
117 **Meillère** — Journ. Pharm. Chim. 1930, **t. 12,** p. 91.
118 **Mestrezat** — Bull. Soc. Chim. Biol. 1923, **t. 5,** p. 263.
119 **Mouriquand et Leulier** — Rapport au Congrès Français de Médecine, 21e session, Liège 1930, Masson, Vaillant, Carmann, édit.
120 **Mousseron** — Bull. Soc. Chim. Biol. 1930, **t. 12,** p. 1014.
121 **Mousseron** — Bul. Soc. Chim. Biol. 1931, **t. 13,** p. 831.
122 **Mousseron et Mlle Bouissou** — Bull. Soc. Chim. Biol. 1930, **t. 12,** p. 482.
123 **Mousseron** — Bull. Soc. Chim. Biol. 1931, **t. 13,** p. 831.
124 **Myrbach** — Zeitsch. für Physiol. Chem. 1925, **t. 148,** p. 197.
125 **Pacu (Mlle M.)** — Thèse Doct. Univ. Pharm. Paris, 1932.
126 **Paget** — Le sang. 1931, **t. 2.** p. 210.
127 **Pregl** — Microanalyse. Traduction Française de Nicloux et Welter. Edit. Presses Univers. Paris, 1923
128 **Prybram** — Ber Sâsch Ges. Wiss. 1871, **t. 23,** p. 279.
129 **Renaudin (M. et Mme)** — Journ. Pharm. et Chim. 1934, **t. 20,** p. 461.
130 **Renaudin** — Bull. Soc. Chim. Biol. 1936, **t. 18,** p. 301.
131 **Renaudin** — Journ. Pharm. et Chim. 1936, **t. 23,** p. 447.
132 **Richards** — Zeitsch. Anorg. Chem. 1907, **t. 28,** p. 71.
133 **Robert (Mlle)** — Thèse Doct. Sc. Paris 1915.
134 **Rodt et Kindscher** — Chem. Zeits, 1924, **t. 48,** p. 953.
135 **Roe et Kahn** — Journ. of Biol. Chem. 1926, **t. 67, p. 595.**
136 **Roe et Kahn** — Journ. of Biol. Chem. 1929, **t. 81,** p. 1.
137 **Rogozinski** — Bull. Soc. Chim. 1928, **t. 43,** p. 464.

138 **Rona et Kleinmann** — Biochem. Zeits. 1923, **t. 137**, p. 157.
139 **Rothwell** — Journ. of Biol. Chem. 1927, **t. 74**, p. 257.
140 **Saint-Sernin** — Ann. Chim. Anal. 1913, **t. 21**, p. 228.
141 **Samson** — Klin. Wochen. 1931, **t. 19**, p. 9.
142 **Schimmelpfeng** — Biochem Zeits. 1927, **t. 183**, p. 42.
143 **Shol** — Journ. of Biol. Chem. 1922, **t. 50**, p. 527.
144 **Sherman** — Journ. of Biol. Chem. 1920, **t. 44**, p. 21.
145 **Stanford et Weatley** — Biochem. Journ. 1925, **t. 19**, p. 710
146 **Stewart** — Biochem. Journ. 1928, **t. 22**, p. 548.
147 **Stewart et Percival.** — Physiol. Reviews. 1928, **t. 2**, p. 283.
148 **Stolberg** — Cité par Rodt (134).
149 **Streling et Maslow** — Journ. of Biol. Chem. 1928, **t. 78** p. 661.
151 **Taillandier** — Sepctrophotométrie et photométrie. Maloine, édit., Paris 1931.
152 **Treadwell, Durenger et Cosciuny** — Analyse quantitative Dunod et Pinot édit., Paris, 1920, p. 78, Trad. Franç. M. Boll.
153 **Trevan et Bainbridge** — Biochem. Journ. 1926, **t. 20**, p. 423.
154 **Trincao et Sacadura Cortereal** — C. R. Soc. Biol. Lisbonne 1931, **t. 107**, p. 1165.
155 **Van Slyke et Sendroy** — Journ. of Biol. Chem. 1929, **t. 84**, p. 217.
156 **Velluz et Deschaseaux** — Bull. Soc. Chim. Biol. 1931, **t. 13**, p. 797.
157 **Velluz et Deschaseaux** — C.R. Soc. Biol. 1930, **t. 104**, p. 976.
158 **Velluz et Deschaseaux** — C.R. Soc. Biol. 1930, **t. 104**, p. 977.
159 **Vernes, Bricq et Badoche (Mlle)** — Travaux de l'Institut Prophylactique, 1928, mai, fasc. VI.
160 **Villiers** — Tableaux d'analyse qualitative des sels par voie humide. Doin édit. Paris 1924.
161 **Voorhoeve** — Biochem. Zeits. 1911, **t. 30**, p. 195.
162 **Waard (de)** — Nederl Tihds. V Gene. Amst. 1918, **t. 11**, p. 992.
163 **Waard (de)** — Biochem. Zeits. 1919, **t. 97**, p, 176.
164 **Warburg** — Biochem. Zeits. 1926, **t. 178**, p. 208.
165 **Wiley** — Ind. Engin. Chem. 1931, d'après Chim. et Ind. 1931, **t. 26**, p. 1302
166 **Willard et Boldyreff** — Journ. of Amer. Chem. Soc. 1930, **t. 52**, p. 1088.
167 **Winkler** — Zeitsch. Angew. Chem. 1918, **t. 31** p. 203.
168 **Wolff** — Bull. Soc. Chim. Biol. 1933, **t. 15**, p. 814.
169 **Wolfgang** — Thèse Doct. Berlin, 1925, cité par Guillaumin (64).
170 **Wright** — The Lancet, cité par Boinot (20).
171 **Yoshimatsu** — Journ. of exp. Méd. 1930, **t. 15**. p. 355.

172 **Aburel et Ornstein** — Gynécologie et obstétrique, 1931, **t. 23,** p. 30.
173 **Aimes et Cayla** — Presse Médicale 1935, N° 87, p. 1698.
174 **Aimes et Cayla** — Revue d'Orthopédie, 1937, **t. 24,** p. 151.
175 **Albright, Blomberg, Castleman et Churchill** — Archives of internat Médec. 1934, **t. 54,** N° 3.
176 **Bentegeat** — Thèse Doct. Méd. Bordeaux 1940. (Drouillard édit.).
177 **Bérard et Henry** — 24e Congrès Français de Médecine Paris 1936.
178 **Bérard, Thiers et Henry** — Presse Médic. 1935 N° 49, p. 977.
179 **Berman** — Endocrinology, 1932, **t. 16,** p. 109.
180 **Bernard, Boyer, Forgé et M^lle Gauthier Villars** — Presse Médicale 1935, N° 59, p. 1186.
181 **Binet** — Xe Congrès de la Soc. Internat. de Chirurgie, Le Caire 1935.
182 **Broskmuller** — Klinis. Wosch. 1941. **t. 20** p. 809.
183 **Carulli et Palini** — Clinica Chir. 1937, t. 13, N° 1. p. 11.
184 **Chifauliau et Braine** — Xe Congrès de la Soc. Internat. de Chirurgie, Le Caire 1935.
185 **Clément** — Bull. et Mém. Soc. Méd. Hôp. 1935, **t. 51,** p. 1111.
186 **Clément** — La Fragilité osseuse, Presse Médic. 1937, N° 41, p. 773.
187 **Clément, Barnaud et Lyon** — Bull. et Mém. Soc. Médic. Hôp. Paris 1935, **t. 51,** p. 1104.
188 **Coppo** — Mécanisme de la décalcification osseuse, Paris Médical 1935, N° 32, p. 110.
189 **Coryn** — 24e Congrès Français de Médecine, Paris, 1936.
190 **Coryn** — Presse Médic. 1937, N° 32, p. 611.
191 **Coryn** — Presse Médic. 1937, N° 90, p. 1582.
192 **Coryn** — Presse Médic. 1937, N° 93, p. 1649.
193 **Coryn** — Presse Médic. 1937, N° 103, p. 1873.
194 **Coryn** — Presse Médic. 1938, N° 13, p. 228.
195 **Coryn** — Ann. Anat. Pathol. 1939, **t. 16,** p. 27.
196 **Coste** — Presse Médic. 1934, N° 41, p. 851.
197 **Coste, Grigaut et Charmant** — C. R. Soc. Biol., 1933, **t. 114,** p. 895.
198 **Cotte** — Les troubles fonctionnels de l'appareil génital de la femme. Masson édit., Paris, 1931.
199 **Courty** — Revue de Chirurg. 1935, N° 3, p. 182.
200 **Cronental** — Deutsch. Arch. für klinis. Medizin 1932, **t. 174.** p. 228.
201 **Crouzen. Macé de Lépinay et Di Matteo** — Bull. et Mém. Sté. Méd. des Hôpitaux, 1934, **t. 50,** p. 1672.

202 **Dalsace** — Thèse Doct. Médec. Paris 1936.
203 **Davidovitch** — Medicinski Pregled. 1935, **t. 10**, p. 161.
204 **Debré, Marie et Jammet** — Presse Médic. 1937, N° 52, p. 972.
205 **Debré, Marie et Jammet** — Presse Médic. 1937, N° 49, p. 913.
206 **Decourt** — Semaine Hôpitaux Paris, 1941, N° 16, p. 517.
207 **Delahaye** — Journ. Radio et Elect. 1931, **t. 15**. p. 665.
208 **Donati** — Congrès Soc. Internat. Chirurgie, Le Caire 1935.
209 **Elmslie, Fraser, Dunthill, Vick, Harris et Dauphinée** — British. Journ. of Surgery, 1933, **t. 20**, p. 479.
210 **Ehrstroff** — Acta Médica Scandin. 1934, suppl. 58, p. 1.
211 **Fauth** — Wien. Klinis. Wosch. 1937, **t. 50**, p. 1486.
212 **Federoff** — Lyon Chirurg. 1935, **t. 32**, p. 684.
213 **Fiessinger** — Journ. Méd. Français 1936, **t. 25**. p. 429.
214 **Franco** — Les parathyroïdes. Thèse Doct. Méd. Paris 1934. Arnette édit.
215 **Garcia** — Recherches sur l'ossification. Thèse Doct. Sc. Montpellier 1935.
216 **Gemeinhart et Horsters** — Deutch. Arch. für klinis. Medizin 1934, **t. 176**, p. 437.
217 **Girard** — Annales Thérap. Biol. 1935, N° 4, p. 412.
218 **Grégoire, Lyonnet et Delavenne** — Le sang. 1933, **t. 7** p. 790.
219 **Graber Duvernay** — Bull. Médic. 1933, N° 21, p. 380.
220 **Guillaumin** — Annal. Thérap. Biol. 1935, N° 8, p. 639.
221 **Gutman, Swenson et Parsons** — Journ. of the Amer. Méd. Assoc. 1934, **t. 103**, p. 87.
222 **Gyorgy** — Zentralblatt für innere Medizin 1932, **t. 53**, p. 1239.
223 **Hanssen** — Acta Médica Scandin. 1936, **t. 89**, p. 517.
224 **Harvier et Lafitte** — Bull. et Mém. Soc. Méd. Hôp. 1931, **t. 47**, p. 1203.
225 **Herbert** — Presse Médic. 1943, N° 46, p. 689.
226 **Imbert** — Bull. et Mém. Soc. Chirur. Marseille 1934, **t. 8** p. 40.
227 **Izod Bennet** — Presse Médic. 1943, N° 75, p. 1459.
228 **Jonkherre et Leclerc** — Soc. Clin. Hôp. Bruxelles. Séance du 10 mars 1934.
229 **Jung** — 42e Congrès Assoc. Franç. Chirurg. Paris 1933.
230 **Kaplan** — Bull. Soc. Pédiat. de Paris, 1938, **t. 36**, p. 396.
231 **Kienbock** — Bruns. Beiträge zur klinis. Chirur. 1934, **t. 159**, p. 577.
232 **Kleine** — Archiv. für Gynäk. 1932, **t. 151**, p. 182.
233 **Labbé, Boulin, Escalier et Nepveux** — Soc. Méd. Hôp. Paris. Séance du 4 Nov. 1932.
234 **Langeron et Geneau** — Revue du Rhumat. 1936, **t. 3**, p. 753.
235 **Lecoq** — Académie des Sciences, réance du 19 Octobre 1942.
236 **Lecoq** — Presse Médic. 1943, N° 37, p. 537.
237 **Ledoux et Cottet** — Archiv. Méd. Enfants 1931, N° 7, p. 416.
238 **Le Floch** — Monde Médical 1932, **t. 42**, N° 814, p. 803.

239 **Lettes** — Cité par M. P. Weil et Guillaumin (287).
240 **Leriche** — Acad. Chirurg. Séance du 7 avril 1937, **t. 63**, p. 418.
241 **Leriche** — Presse Médic. 1932, N° 58, p. 1133.
242 **Leriche** — Presse Médic. 1941, N°48, p. 609.
243 **Leriche et Jung** — Presse Médic. 1933, N° 4, p. 66.
244 **Leriche et Jung** — Presse Médic. 1935, N° 37. Revue des Journaux, p. 107.
245 **Leriche et Jung** — Presse Méd. 1938, N° 46, p. 897.
246 **Leriche, Jung et Surregya** — Presse Médic. 1933, N° 101, p. 2059.
247 **Leriche et Policard** — Presse Médic. 1934, N° 9, p. 169.
248 **Leriche et Policard** — Journ. de Chirurg. 1935, **t. 26**, p. 161.
249 **Lesné, Launay et Gilbrin** — Bull. Sté Pédiatrie, 1934, **t. 32**, p. 220.
250 **Levent** — Gazette des Hôp. 1932, N° 102, p. 1901.
251 **Lièvre** — L'ostéose parathyroïdienne et les ostéopathies chroniques. Thèse Doct. Méd. Paris 1931, et 1 vol. Masson. Paris 1932.
252 **Lièvre** — L'Hôpital, 1935, N° 385, p. 415.
253 **Lièvre** — Biol. Méd. 1938, **t. 28**, p. 153.
254 **Mach et Rutishauser** — Helvet. Méd. Acta 1937, **t. 4**, p. 423.
255 **Mallet-Guy** — Presse Médic. 1936, N° 29, p. 592.
256 **Marfan** — Gazette des Hôp. 1933, N° 7, p. 115.
257 **Margitay, Becht et Gomori** — Klinis. Woschen. 1936, **t. 15**, p. 939.
258 **Martin et Sarasin** — Revue Médic. Suisse Rom. 1932, N° 12 p. 705.
259 **Mathieu, Verain, Martin et Herbeuval** — Revue Méd. de Nancy 1942, t. 68, p. 66.
260 **Meerssemann et Seguin** — Revue Tuber. 1935, **t. 1**, p. 514.
261 **Ménégaux, Guillaumin et Pergola** — Journ. de Chirurg. 1934, **t. 43**, p. 847.
262 **Morelle** — Scapel. 1934, **t. 87**, p. 1376.
263 **Moulonguet et Lièvre** — Journ. de Chirurg. 1939, **t. 53**, p. 161.
264 **Mouriquand** — Journ. Méd. Lyon 1932, N° 291, p. 103.
265 **Mouriquand** — Revue du Rhumat. 1934, **t. 1**, p. 733.
266 **Mouriquand** — Journ. Méd. Franç. 1944, N° 8.
267 **Mouriquand et Leulier** — Rapport 21e Congrès Méd. Liège 1930, p. 35.
268 **Mouriquand, Leulier, Bernheim et Mlle Weill** — Lyon Méd. 1931, N° 148, p. 697.
269 **Pehu, Policard et Dufour** — Presse Médic. 1931, N° 53, p. 999.
270 **Pergola** — Presse Médic. 1933, N° 70, p. 1366.
271 **Poumailloux** — Le système réticulo-endothélial, Edit. l'Expan. Scient. Franç. Paris.
272 **Ravault et Vincent** — Revue du Rhumat. 1944, **t. 1**, p. 761.

273 **Ravina** — Presse Médic. 1936, N° 98, p. 1971.
274 **Reboul et Racine** — Journ. Médic. Franç. 1934, t. 23, p. 122.
275 **Richard, Dupuis, Rœderer et Froyez** — Presse Médic. 1934, N° 92, p. 1833.
276 **Roux** — Des accidents de lithiase rénale au cours de décalcification osseuse. Thèse Doct. Méd. Paris 1937.
277 **De Sèze et Monnier** — Bull. Soc. Mér. des Hôp. 1943. N°s 32, 33, 34, p. 427.
278 **Shelling et Voshell** — Archiv. of Intern. Méd. 1935, t. 55, p. 592.
279 **Simon** — Rev. Méd. de l'Est 1934, t. 62, p. 325.
280 **Simon** — Gazette des Hôp. 1931, N° 103, p. 1947.
281 **Snapper** — 24e Congrès Méd. Paris 1936.
282 **Sœur** — Presse Méd. 1931, N° 53, p. 1003.
283 **Tschudnowsky** — Des accidents et complications rénales chez les tuberculeux osseux allongés ou les rénaux de Berck. Thèse Doct. Méd. Paris 1930. Vigné edit.
284 **Turpin, Guillaumin et Lafon** — Presse Médic. 1941, N° 48, p. 594.
285 **Underhill et Gross** — Cité par M. P. Weil et Guillaumin (287).
286 **Weil (M. P.)** — Presse Médic. 1934, N° 11, p. 211.
287 **Weil et Guillaumin** — 21e Congrès Franç. Méd. Liège 1930, t. 2, p. 93.
288 **Weiss, Monguio et Bernard** — Union Méd. Canada 1932, t. 61, p. 16.
289 **Weissenbach et Lièvre** — Presse Médic. 1930, N° 14, p. 260.
290 **Weissenbach** — Monde Méd. 1935, N° 858, p. 40.
291 **Welti** — 42e Congrès Assoc. Franç. Chirurg. Paris 1933.
292 **Welti, Huguenin et Placa** — Assoc. Franç. Etude Cancer 1935, t. 24, p. 165.
293 **Wilcox** — Gazette Hôp. 1932. N 46, p. 869.
294 **Zondek** — Wien. Klinis. Woschen. 1936, t. 49, p. 1282.

TABLE DES MATIÈRES

INTRODUCTION

PREMIÈRE PARTIE

RECHERCHES SUR LE MICRO-DOSAGE DU CALCIUM

Pages

Principes généraux de dosage du calcium 9

Chapitre I. — Précautions d'ordre général 13

« II. — Solutions employées 14

« III. — Considérations générales sur les micro-dosages iodométriques 18

« IV. — Titrage des solutions d'hyposulfite de sodium N/100 et N/200 23

« V. — Micro-dosage iodométrique du permanganate de potassium 26

« VI. — Micro-dosage de l'ion oxalique 28

« VII. — Micro-dosage du calcium en solution pure selon les techniques de Velluz et Deschaseaux et de Cheymol 35

« VIII. — Dosage du calcium en solution pure par titrage du réactif oxalique introduit en excès connu 38

« IX. — Micro-dosage du calcium en présence de sels minéraux 44

« X. — Influence de la calcination 50

« XI. — Influence du réactif nitro-perchlorique 54

« XII. — Influence de l'acide trichloracétique et du nitrate d'ammonium 56

DEUXIÈME PARTIE

ETUDE CRITIQUE DES PROCEDES DE DOSAGE DU CALCIUM EN BIOLOGIE

Chapitre I. — Macrodosages et microdosages du calcium en biologie 59

« II. — Microméthodes colorimétriques 61

Pages

« III. — Microméthodes néphélémétriques 63

« IV. — Microméthode pondérale et microméthode au nickelonitrite 66

« V. — Microméthode à l'oxalate 67
Terminaison par alcalimétrie.

« VI. — Microméthode à l'oxalate 70
Terminaison par manganimétrie.

« VII. — Microdosage du calcium dans le sérum sanguin.
a) Technique de Cheymol modifiée 76
b) Technique personnelle par retour 82

« VIII. — Dosage du calcium dans les urines, fèces, tissus 86

« IX. — Séro-calcémie normale et variations physiologiques de la séro-calcémie 88

TROISIÈME PARTIE

LA CALCEMIE DANS LES AFFECTIONS OSSEUSES

Introduction 93

A. — AFFECTIONS OSSEUSES GENERALISEES.

Chapitre I. — Les affections endocriniennes du squelette 94

1. — Affections osseuses d'origine hypophysaire 94

2. — Affections osseuses liées à un trouble de fonctionnement des glandes sexuelles 96

3. — Affections osseuses liées à un dysfonctionnement thyroïdien 98

4. — Influence de diverses glandes sur la calcification 98
Thymus - Rate - Surrénale.

5. — Affections osseuses d'origine parathyroïdienne 99
A. Hypoparathyroïdie.
B. Hyperparathyroïdie.
Maladie de Recklinghausen.
Ostéose parathyroïdienne.

Chapitre II. — Affections généralisées du squelette liées à des troubles de la nutrition 105

1. — Osthéopathies par apport insuffisant de calcium 105
Ostéopathies de famine.

2. — Ostéopathies par insuffisance d'apport et insuffisance de fixation de calcium 105
Ostéomalacies.
Ostéoporoses.

PAGES

3. — Ostéopathies par insuffisance de fixation de calcium 108
Rachitisme.
Rachitisme tardif.
Ostéopathies consécutives à des troubles intestinaux.

4. — Ostéopathies par troubles de l'élimination calcique 111
Syndrôme ostéo-rénal.

CHAPITRE III. — Ostéopathies par ostéolyses généralisées.... 113
Cancer généralisé des os.

CHAPITRE IV. — Ostéopathies ostéoclasiques avec reconstruction osseuse 114
Maladie de Paget.
Léontiasis ossea.
Maladie de Pierre Marie.
Mélorhéostose d'André Léri.
Ostéopétrose.
Rhumatisme chronique déformant.
Polyarthrites ankylosantes.

CHAPITRE V. — Osthéopathies par altération du tissu osseux 122

1. — Altération de la substance osseuse.... 122
Maladie de Lobstein.
Dysplasie periostale.

2. — Maladie de chondrogénèse 123
Exostoses ostéogéniques.
Dyschondroplasie d'Ollier.

3. — Maladie des éléments réticulo-endothéliaux 124
Maladie de Schuller Christian.
Autres réticulo-endothélioses.

B. — AFFECTIONS OSSEUSES LOCALISEES.

CHAPITRE VI. — 1. — Lésions traumatiques 125
Fractures.
Ostéoporoses traumatiques.

2. — Lésions infectieuses 126
Ostéomyélites.
Tuberculose osseuse.

3. — Affections rhumatismales 130

4. — Tumeurs osseuses 130
Kystes osseux.
Ostéosarcômes.

CONCLUSIONS 133

BIBLIOGRAPHIE 147

Imprimerie S. SORDES - Bayonne - 1946